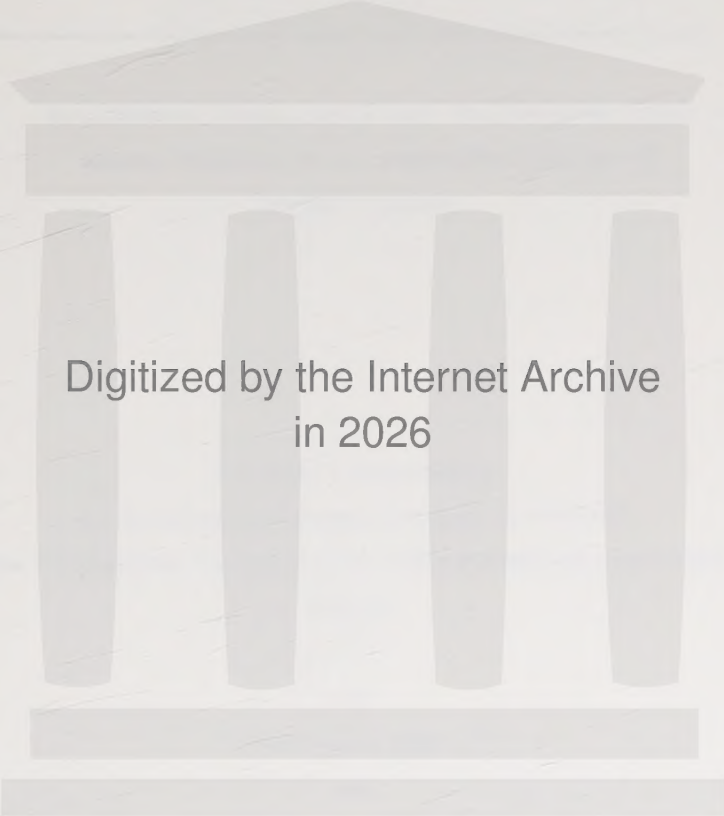


**Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit
einer oralen, intranasalen und parenteralen Impfung
mit Tetanus - Toxoid**

Karl-Heinz Sorg

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546706_0018

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit einer
oralen, intranasalen und parenteralen Impfung mit
Tetanus - Toxoid

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians Universität
München

von
Karl-Heinz Sorg
aus
Ravensburg

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. H. Kraft

Tag der Promotion: 18. Juli 1975



INHALTSVERZEICHNIS

1.	<u>EINLEITUNG</u>	Seite 1
2.	<u>SCHRIFTTUM: "ANTITOXISCHE IMMUNITÄT"</u>	2
2.1	<u>Begriffsbestimmungen</u>	2
2.1.1	Antitoxische Immunität	2
2.1.2	Ektotoxine	2
2.1.3	Antitoxine	4
2.2	<u>Künstlich erworbene, aktive antitoxische Immunität</u>	4
2.2.1	Impfstoffe zur aktiven Immunisierung gegen Ektotoxine	5
2.2.2	Impfverfahren zur aktiven Immunisierung gegen Ektotoxine	10
2.2.3	Spezielles zur antitoxischen Immunität	12
2.2.3.1	Die antitoxische Serumimmunität	12
2.2.3.2	Die potentielle antitoxische Immunität	13
2.2.4	Postvaccinale Komplikationen nach aktiver antitoxischer Immunisierung	14
2.3	<u>Passive antitoxische Immunität</u>	15
2.3.1	Künstlich erworbene, passive Immunität gegen Ektotoxine	15
2.3.1.1	Anwendung von heterologem antitoxischem Serum	15
2.3.1.2	Anwendung von homologem antitoxischem Serum	17

2.3.1.3	Anwendung von antitoxischen Gammaglobulinen	Seite 18
2.3.2	Natürlich erworbene passive Immunität gegen Ektotoxine	18
2.3.3	Komplikationen nach passiver antitoxischer Immunisierung	19
2.4	<u>Simultanimpfung gegen Ektotoxine</u>	20
3.	<u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	26
3.1	<u>Material und Methoden</u>	26
3.1.1	Versuchstiere	26
3.1.2	Impfstoff	26
3.1.3	Immunisierung	27
3.1.4	Speichelgewinnung	28
3.1.5	Belastungsversuche	28
3.1.6	Auswertung der Belastungsversuche	29
3.1.7	Serumgewinnung	30
3.1.8	Antitoxinbestimmung	30
3.2	<u>Ergebnisse</u>	31
3.2.1	Ergebnis der Belastungsversuche nach ein- maliger, unterschiedlicher Applikation des Tetanus-Toxoids bei Mäusen	31
3.2.2	Ergebnis nach zeitlich unterschiedlicher Belastung von einmal mit Tetanus-Toxoid immunisierten Mäusen	33
3.2.3	Ergebnis der Belastungsversuche nach ein- maliger lokaler Immunisierung mit ver- schiedenen Tetanus-Toxoidpräparationen bei Mäusen	34

3.2.4	Ergebnis nach nasaler Belastung von nasal und parenteral mit Tetanus-Toxoid immunisierten Mäusen	Seite 35
3.2.5	Ergebnis der Belastungsversuche nach mehr- maliger lokaler und parenteraler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen	35
3.2.6	Ergebnis der Belastungsversuche nach lokaler und parenteraler Immunisierung mit Tetanus- Toxoid bei Meerschweinchen	36
3.2.7	Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen nach verschiedenen lokalen Immunisierungsver- fahren mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen	37
3.2.8	Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen nach mehrmaliger nasaler, oraler und sub- kutaner Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen	37
4.	<u>Besprechung der Ergebnisse</u>	48
5.	<u>Zusammenfassung</u>	51
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	54

1. E I N L E I T U N G

In früheren Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß sich Mäuse oral mit Tetanus-Toxoid immunisieren lassen. Die Immunität war dabei sehr stark von der Applikationsart abhängig.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluß weiterer Faktoren auf die orale Immunisierung gegen Tetanus zu untersuchen. Darüberhinaus soll vergleichend auch die Wirksamkeit einer intranasalen und subkutanen Immunisierung geprüft werden. Als Versuchstiere dienen sowohl Mäuse als auch Meerschweinchen.

2. SCHRIFFTUM

ANTITOXISCHE IMMUNITÄT

2.1 Begriffsbestimmungen

2.1.1 Antitoxische Immunität

Unter dem Begriff "antitoxische Immunität" versteht man die im Laufe des Lebens aktiv oder passiv erworbene Abwehrkraft eines Organismus gegenüber bakteriellen Ektotoxinen (72, 105, 109, 138). Die Immunität gegenüber bakteriellen Endotoxinen rechnet man dagegen zur "antibakteriellen Immunität", denn die Endotoxine sind ein fester Bestandteil der Bakterienzelle (45, 86, 136, 138). Träger der antitoxischen Immunität sind die Antitoxine, die die für die Entstehung der Krankheit notwendige Toxinwirkung verhindern. Das Toxin wird neutralisiert bevor es die empfänglichen Zellen erreicht (44, 45, 72, 138).

Charakteristisch für die antitoxische Immunität ist, daß schon eine geringe Konzentration an Antitoxinen im strömenden Blut, als Schutz gegen das im Gefolge einer Infektion auftretende Toxin, ausreicht. Sie ist vollständig und endgültig in ihrer Wirkung auf das schädliche Agens (44, 45, 46, 72, 86, 138).

2.1.2 Ektotoxine

Die als Ekto- oder Exotoxine bezeichneten Giftstoffe werden von bestimmten Bakterienarten während ihrer Wachstumsphase gebildet und an die Umgebung abgegeben (44, 45, 46, 49, 86). Nach PILLEMER und WORTMAN (91) soll es sich dabei um Protoxine handeln, die erst in den Geweben des Wirts zu Toxinen umgebildet werden. Die Ektotoxine

können durch Filtration von der Bakterienzelle vollständig getrennt werden. Ihre Bedeutung für die Bakterienzelle ist bisher nicht bekannt (45). Alle Ektotoxine haben ihre eigene Pharmakologie. Sie besitzen eine große Affinität zu bestimmten Zellen im Gewebe des Wirts und sind schon in sehr kleinen Dosen tödlich. Es sind die stärksten bekannten biologischen Gifte. Ihr Wirkungsort ist meist nicht an der Stelle des Eindringens (44,45,86,138).

Die Ektotoxine werden als reine Proteine beschrieben ohne einen nichtproteinischen Anteil. Einige Ektotoxine haben enzymatischen Charakter (45). Das Molekulargewicht der Ektotoxine ist sehr verschieden. Es wird für Tetanus-Toxin mit 67.000 (90), für Diphtherie-Toxin mit 72.000 (87) und für die verschiedenen Botulinum-Toxine mit 900.000 - 1.000.000 (45) angegeben. Durch Wärme, Licht, Sauerstoff und chemische Substanzen können sie leicht zerstört werden. Auf Grund ihres Proteincharakters haben die Ektotoxine sehr starke antigene Eigenschaften. Sie stimulieren im Wirtsorganismus die Bildung von neutralisierenden Antikörpern (Antitoxine) (44,45,86,105,138).

Die wichtigsten Ektotoxinbildner gehören der Bakteriengattung Clostridium an. Es sind dies die Erreger des Tetanus (Cl.tetani), Botulismus (Cl.botulinum A - E) und des Gas- und Rauschbrandes bei Mensch und Tier (Cl.septicum, Cl.perfringens, Cl.novyi, Cl.histolyticum, Cl.feseri, Cl.gigas). Daneben bilden auch Bakterien der Gattungen Corynebakterium, Staphylococcus, Streptococcus, Shigella und Vibrio Ektotoxine (44,45).

2.1.3 Antitoxine

Antitoxine sind spezifisch gegen die krankmachenden Toxine der Bakterien gerichtete Antikörper. Sie neutralisieren das Toxin des Erregers, wobei der Erreger selbst unbeeinflusst bleibt (44,45,72, 127,138). Die Antitoxine werden vom Wirtsorganismus gegen die Toxine bzw. deren Derivate gebildet (44,45,72,138). Tetanus- und Diphtherie-antitoxine waren die ersten Antikörper die 1890 als solche erkannt wurden. VON BEHRING und KITASATO (4) stellten fest, daß sie mit dem zellfreien Serum immuner Tiere den Schutz auf andere Tiere übertragen konnten.

Die Antitoxine werden als Immunglobuline beschrieben (34). In der Elektrophorese wandern sie vor allem in der Gammaglobulinfraktion. Bei den Antitoxinen handelt es sich um Antikörper der Typen IgM, IgG und IgA (69,99). Antikörper vom Typ IgM treten bereits 7 Tage nach einer aktiven Immunisierung gegen Diphtherie und Tetanus auf, während Antikörper vom Typ IgG 2 - 3 Tage später im Serum festzustellen sind. Nach einer Revakzination werden IgG in sehr viel größeren Mengen gebildet als IgM. Antikörper des Typs IgA sind dann vorübergehend zu finden (42,50,69).

2.2 Künstlich erworbene, aktive antitoxische Immunität

Ein sicherer und langdauernder Schutz gegen bakterielle Ektotoxine kann künstlich durch eine aktive Immunisierung erreicht werden (7, 11,14,23,45,46,49,52,61,86,109). Grundsätzlich ist es möglich, gegen alle Ektotoxine aktiv zu immunisieren (11,28,29,45,52,56,58,61). Man muß aber zwischen Toxinen die selten vorkommen und Toxinen, die eine dauernde Bedrohung darstellen, unterscheiden.

Die aktive Immunisierung bei selten vorkommenden Intoxikationen hat wenig Bedeutung und ist nur bei besonders exponierten Personen angebracht. So werden z.B. aktive Immunisierungen gegen Botulismus nur bei Personen, die mit *Cl. botulinum*-Toxinen in Berührung kommen, durchgeführt. Desgleichen wird die aktive Immunisierung gegen Toxine der Gas- und Rauschbranderreger wegen des seltenen Vorkommens nur in Ausnahmefällen angewandt (41,43,49,133). Tierversuche und Versuche an Freiwilligen haben aber gezeigt, daß ein zufriedenstellender Schutz erreicht werden kann (11,28,29,58,61).

Der Wert einer aktiven Immunisierung gegen die Ektotoxine von Staphylokokken und Streptokokken wird diskutiert. Die Impfung schützt zwar gegen die toxische Manifestation, hat aber keinen oder nur einen geringen Einfluß auf die Erreger. Die klinischen Erscheinungen werden jedoch nicht nur allein auf die Toxine, sondern auch auf die Erreger selbst zurückgeführt, so daß eine antitoxische Immunität allein als Schutz nicht ausreicht (44).

Anders liegen die Verhältnisse bei den aktiven Schutzimpfungen gegen Tetanus und Diphtherie. Die Erreger dieser Erkrankungen, *Cl. tetani* und *Corynebakterium diphtheriae*, sind weit verbreitet und stellen eine ständige Gefahr für die Menschheit dar (105,109). Da nur die aktive Immunisierung einen sicheren Schutz bietet, besitzen die Impfungen gegen Tetanus und Diphtherie die größte Bedeutung unter den Toxoidimpfungen und sind dementsprechend auch am gründlichsten untersucht worden. Sie nehmen darum auch in dieser Ausführung den größten Raum ein.

2.2.1 Impfstoffe zur aktiven Immunisierung gegen Ektotoxine

Die meisten Toxine sind selbst zu giftig, um zur aktiven Immunisierung

benutzt werden zu können (45,46,86,138). Die Menge Toxin, die ihrem Antigengehalt nach eine aktive Immunität erzeugen könnte, würde einen Organismus töten, lange bevor dieser imstande ist Antitoxine dagegen zu bilden (45,86).

Eine Ausnahme bildet nur das Diphtherie-Toxin. Mit diesem Toxin ist es möglich durch Verabreichung mehrerer, minimaler, subletaler Dosen eine Immunität zu erreichen. Die Anwendung ist jedoch gefährlich (105). 1913 immunisierte erstmals VON BEHRING Kinder mit einem Diphtherie-Toxin-Antitoxin-Gemisch, in dem Toxin und Antitoxin so kombiniert waren, daß nur ein geringer Toxinüberschuss vorhanden war (5). Dieses Gemisch wurde einige Jahrzehntelang zur Impfung gegen Diphtherie benutzt. Die Ergebnisse waren nicht befriedigend, außerdem traten tödliche Zwischenfälle auf(33).

Den Wendepunkt für die Immunprophylaxe gegen bakterielle Ektotoxine brachte die Erkenntnis, daß verschiedene Einflüsse wie Altern, Hitze, Einwirken von H_2S , Formol und andere chemische Substanzen, die für die schädliche Wirkung des Toxins verantwortliche Determinante zerstören, ohne die antigen wirkende Determinante des Toxinmoleküls anzugreifen (45,86,138).

Die größte Bedeutung erreichte dabei die Entgiftung durch Formalinbehandlung (105,109). RAMON (97) war der erste, der über die gute Wirkung und Verträglichkeit des Formalin inaktivierten Toxins berichtete. Bei dieser Art der Entgiftung des Toxins wird eine chemische Reaktion zwischen dem Formaldehyd und der Aminogruppe der toxophoren Determinante des Toxinmoleküls vermutet (105).

Andere Untersucher glauben an eine Polymerisation der Toxinmoleküle (6a).

Noch heute werden die von RAMON empfohlenen Inaktivierungen des Toxins mit Formalin und Hitze zur Impfstoffherstellung benutzt. Dieses so gewonnene "Roh-Toxoid" kann zur Immunisierung verwendet werden (105). Es enthält jedoch neben dem Toxoid, das selbst ein spezifisches Proteinantigen darstellt (44,45,105,109,138), beträchtliche Mengen anderer Proteine, insbesondere Bakterienproteine und Proteine und Peptide des Nährmediums. Um das Roh-Toxoid von diesen unspezifischen Ballaststoffen, die für die meisten Nebenreaktionen allergischer Natur verantwortlich gemacht werden (88,105,109), zu befreien, wird es der Reinigung unterzogen, durch a) Ultrafiltration (140), b) Dialyse (85), c) Adsorption an Aktivkohle (85); d) Zusatz von Alkali- und Ammoniumsalzen, die eine Präzipitation von nicht spezifischen und weniger wirksamen Proteinen bewirken (85); e) Behandlung mit Salzen und Hydroxyden 2- und 3wertiger Metalle, vor allem von Aluminiumverbindungen, deren Zugabe zu Roh-Toxoiden eine Eiweißfällung bewirkt, wobei das entstehende Präzipitat Aluminium enthält (47); f) Eiweißfällung mit Säuren (9); und g) kombinierte Reinigungsverfahren (105).

Mit steigender Reinheit wächst das Immunisierungsvermögen der Toxoide (8). Gleichzeitig mit dem Reinigungsprozeß wird eine Konzentration des Toxoids erreicht (105,109).

Neben den reinen Toxoiden (flüssige Toxoide) werden um die Antigenität weiter zu steigern den Toxoidimpfstoffen Adjuvantien zugesetzt (105, 109). Als solche dienen vor allem Aluminiumhydroxyd und Aluminiumphosphat (Adsorbattoxoiden). CABAU et al. (12) berichten von der guten Wirksamkeit der an Calciumphosphat adsorbierten Toxoide. Auch die Anwendung der Toxoide in Kombinationsimpfstoffen soll

durch die mitenthaltenen Antigene eine zusätzliche Steigerung der Immunogenität bewirken (21,53).

Durch die Verwendung adsorbierter Toxide wurde es möglich, die Anzahl der zur Grundimmunisierung notwendigen Einspritzungen herabzusetzen (12,19,77,123). Während zur Grundimmunisierung mit Adsorbatimpfstoff 2 Toxoidapplikationen ausreichen (84,123), werden bei der Verwendung von reinen Formoltoxoiden 3 Injektionen gefordert (19,122). LEVINE et al. (66) berichten beim Tier von einer deutlichen Überlegenheit des Adsorbattoxoids gegenüber dem reinen Formoltoxoid. Diese Überlegenheit scheint aber beim Menschen nicht so ausgeprägt zu sein.

Einen großen Einfluß auf die Immunität nach einer Revakzination hat das für den Primärstimulus verwendete Toxoid. Der Adsorbatimpfstoff eignet sich als Primärstimulus wesentlich besser als das reine Formoltoxoid (19, 131). Es konnte gezeigt werden, daß auf einen mit Formoltoxoid durchgeführten Primärstimulus, bei der Revakzination, gleichgültig ob mit Formoltoxoid oder mit Adsorbattoxoid durchgeführt, nur wieder eine Erstantwort zu erreichen war. Wurde hingegen die Erstimpfung mit adsorbiertem Toxoid durchgeführt, war nach der Revakzination mit Adsorbat- oder reinem Formoltoxoid, ein deutlicher Antitoxinanstieg im Serum zu verzeichnen (131). D'ANTONA und PIAZZI (3) geben an, daß sich die beste Immunität bei der Verwendung von Adsorbatimpfstoff für die Erstimpfung und reinem Formoltoxoid für die Zweitimpfung erreichen läßt, wobei für die Zweitimpfung keine geringere Antigendosis verwendet werden sollte.

Der Antigengehalt der Toxoidimpfstoffe wird in I.E. (Internationalen Einheiten) angegeben. Die I.E. sind von der WHO festgelegt und standardisiert worden um einen direkten Vergleich der Impfstoffe zu ermöglichen (109,141). So entspricht z.B. eine I.E. Tetanus-Toxoid 0,03 mg des mit Alkohol gereinigten Toxoids.

Nach der Auffassung von JÄNNES et al. (53) sind die handelsüblichen Impfstoffe gegen Diphtherie und Tetanus oft überdosiert.

Verschiedenen Untersuchungen zufolge wurde, trotz starker Verringerung des Antigengehaltes von Diphtherie- und Tetanusvakzinen, nach Wiederholungsimpfungen, kein Abfall der Antitoxine gegenüber den Impfungen mit handelsüblichen Vakzinen festgestellt (53,66,73, 135). LEVINE et coll. (66) führten Untersuchungen mit Diphtherie- und Tetanustoxoiden mit einem Antigenwert von jeweils 5 Lf¹⁾ und 1 Lf am Menschen durch. Ebenso wie bei diesen Untersuchungen, waren die Antitoxintiter nach der Grundimmunisierung, die VOLK et coll. (135) mit 2 Lf Tetanus-Toxoid und McCOMB und LEVINE (73) sogar mit nur 0,2 Lf Tetanus-Toxoid für die Einzelimpfung am Menschen erhielten, nicht schlechter, als die mit den handelsüblichen Toxoiden erreichten Werte. Zum Vergleich gibt Tabelle 1 einen Überblick über die in der BRD verwendeten Impfstoffe gegen bakterielle Ektotoxine mit ihrem I.E.-Gehalt.

1) Lf = Limes flocculationis = Flockungseinheit. Sie entspricht der Toxinmenge, die von 1 I.E. Tetanus-Antitoxin neutralisiert wird.

2.2.2 Impfverfahren zur aktiven Immunisierung gegen Ektotoxine

Noch heute gilt die von RAMON (97,103) vertretene Auffassung, daß durch eine einmalige Toxoidinjektion, gleich welche Form oder Menge des Toxoids angewandt wird, keine ausreichende Immunität hervorgerufen werden kann (26,105,109). Es wird eine Grundimmunisierung mit mindestens 2 Injektionen gefordert (19,84,122,123).

Nach dem Primärstimulus treten nach 7 - 11 Tagen im Serum nur Spuren von freiem Antitoxin auf (50,69). Nach langsamem Ansteigen erreichen sie gegen Ende des 2. Monats ihren Höhepunkt und fallen danach wieder ab (54,105,109).

Nach einer Wiederholungsimpfung treten die Antitoxine bereits am 3. - 4. Tag im Serum in sehr viel größeren Mengen auf (109). Die Antitoxintiter, die durch den Sekundärstimulus erreicht werden, übertreffen die durch den Primärstimulus erzielten Werte um ein Vielfaches und persistieren auch wesentlich länger im Serum (54,135). HEGYESSEY et al. (40) glauben, daß eine belastbare Immunität 2 Wochen nach der 2. Injektion zu erwarten ist. Nach IPSEN (51) dagegen ist die Immunität schon 3 Stunden nach dem Sekundärstimulus weitgehend verbessert. Er führt diese Immunitätssteigerung nicht nur auf die vermehrte Antitoxinbildung zurück, sondern auch auf eine erhöhte Avidität der Antitoxine.

Dem Intervall zwischen den Injektionen kommt eine große Bedeutung für die Entwicklung der Immunität zu. Es wurde nachgewiesen, daß von einem gewissen Zeitminimum an, die Immunitätssteigerung um so größer ist, je größer die Zeitspanne zwischen den Injektionen (126, 135). Eine zu kurz auf die Erstimpfung durchgeführte Revakzination erweist sich als wirkungslos (109). Die Mindestzeit zwischen den

Impfungen wird für das flüssige Toxoid mit 3 - 6 Wochen (103), für das adsorbierte Toxoid mit 1 - 2 Monaten angegeben (116).

Um die Immunität zu vervollständigen wird eine erneute Impfung nach 12 Monaten empfohlen (20). Durch diese Impfung können langdauernde Antitoxinspiegel im Serum von manchmal über 100 I.E. pro ml stimuliert werden (24,137) (vgl. Abb. 1).

Es werden auch Impfverfahren beschrieben, mit denen ein noch schnellerer Schutz gegen Tetanus erreicht wird. PLETICITYI (92) applizierte Ratten eine konstante Menge Tetanus-Toxoid vergleichend auf einmal und verteilt mehrmals innerhalb weniger Stunden. Nach der Belastung mit einer 3fach tödlichen Dosis Tetanus-Toxin konnte er zeigen, daß 100 % der Tiere nach 12 Tagen geschützt waren, wenn er das Toxoid auf 8 Dosen aufteilte, die er im Abstand von 3 Stunden applizierte. Im Vergleich dazu waren nur 40 % der Tiere geschützt, die die Toxoid-Dosis auf einmal injiziert bekommen hatten. Auch bei Affen konnte er bei den 6mal innerhalb von 4 Stunden mit derselben Antigendosis immunisierten Tieren, einen wesentlich höheren Antitoxintiter im Serum bestimmen, als bei den einmal immunisierten. HAAS et coll. (37) führten Versuche an Freiwilligen durch, die sie innerhalb kurzer Zeit mehrmals immunisierten. Auch hier waren die Antitoxintiter bei den mehrmals innerhalb kurzer Zeit Immunisierten wesentlich höher. Erst die Serumuntersuchung am 129. Tag erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen.

In diesem Zusammenhang sind auch die Untersuchungen von MELLANBY und VAN HEYNINGEN (78) interessant, die Versuchstieren hohe Toxoid-Dosen kurz vor, zur gleichen Zeit und kurz nach einer Toxinbelastung

injizierten. Einen Schutz erreichten sie nur bei Tieren, die mit Tetanus- und Cl. perfringens-Toxoid geimpft wurden und nicht nach Impfung mit Diphtherie- und Cl. novyi-Toxoid. Der Schutz wird darauf zurückgeführt, daß die Rezeptorzelle durch das Toxoid und nicht durch das Toxin besetzt wird. Die großen Toxoidmengen sind notwendig, weil die Affinität des Toxins zum Rezeptor größer ist, als die Affinität des Toxoids (21,94).

EDSALL (21) kam zu einem ähnlichen Ergebnis. Er konnte nach Erhöhung der Impfdosis im Belastungsversuch mit Mäusen eine viel rascher eintretende Immunität beobachten. Obwohl noch keine Antikörper nachgewiesen werden konnten, waren einen Tag nach der Toxoidapplikation von 1000 Lf 100 % der Mäuse gegen eine Belastungsdosis von 2 Dlm geschützt. Dieser Schutz fiel vom 2. bis zum 5. Tag bis auf 80 % ab. Am 7. Tag post vaccinationem war der Schutz wieder auf 100 % angestiegen. Zu diesem Zeitpunkt konnten auch Antitoxine im Serum nachgewiesen werden (Abb. 2).

2.2.3 Spezielles zur antitoxischen Immunität

2.2.3.1 Die antitoxische Serumimmunität

Alle im Blut und in den übrigen Körperflüssigkeiten zirkulierenden Antitoxine werden unter dem Begriff "antitoxische Serumimmunität" zusammengefaßt. Es spielt dabei keine Rolle, ob die Antitoxine die Folge einer aktiven oder passiven Immunisierung sind. Diese frei zirkulierenden Antitoxine sind unmittelbar wirksam. Die Stärke der Serumimmunität wird ausgedrückt in Internationalen Einheiten (I.E.) pro ml Serum. Bei Tetanus versteht man z.B. unter einer I.E. die Antitoxinmenge, die 1 Lf Toxin neutralisiert. Zur Beurteilung der Qualität einer Serumimmunität bedient man sich einer sog. Schutz-

schwelle. Darunter versteht man den Antitoxintiter, der fähig ist, die Entstehung einer Erkrankung durch das Toxin zu verhindern (109). Dieser Schwellenwert wird für die einzelnen Toxine unterschiedlich angegeben. So liegt z.B. bei Tetanus der Wert zwischen 0,01 und 0,003 I.E. pro ml Serum (124), während für Diphtherie ein Gehalt von 0,03 I.E. pro ml Serum gefordert wird (48). Die Bestimmung der Qualität der Serumimmunität ist vor allem für die Wirksamkeitsbestimmung der passiven Immunisierung wichtig (109) (s.Kap. 2.3). Bei der aktiven Immunisierung spielt die potentielle Immunität die größere Rolle.

2.2.3.2 Die potentielle, antitoxische Immunität

Unter potentieller, antitoxischer Immunität versteht man das Reaktionsvermögen eines aktiv immunisierten Organismus, auf die geringste Zufuhr von Toxin bzw. Toxoid mit einer Antitoxinbildung zu antworten (70), d.h. obwohl keine Antitoxine im Serum vorhanden sind, ist ein aktiv immunisierter Organismus in der Lage, rascher und reichlicher Antitoxine zu bilden, als ein nicht immuner Organismus (1,138). Auf diesem Effekt beruht die Auffrischimpfung. Die Dauer einer potentiellen Immunität kann durch den Antitoxinanstieg nach einer Auffrischimpfung bestimmt werden (79). Nach einer Impfung mit Tetanus-Toxoid konnten Antikörperanstiege, die nach einmaliger Immunisierung nicht möglich gewesen wären, noch nach 16 und 18 Jahren beobachtet werden (109). Die Reaktivität soll aber nach KAISER et coll. (55) weniger ausgeprägt sein, wenn die Grundimmunisierung mehr als 14 Jahre zurückliegt.

Die Impfstoffhersteller in der BRD empfehlen aus Sicherheitsgründen bei Tetanus und Diphtherie eine Auffrischimpfung alle 5 Jahre, bei

Diphtherie aber nur während der ersten 12 Lebensjahre (142).

2.2.4 Postvaccinale Komplikationen nach aktiver, antitoxischer Immunisierung

Die Impfkomplicationen nach aktiver, antitoxischer Immunisierung können unspezifischer, infektiöser, toxischer und allergischer Art sein (109).

Lokale entzündliche Prozesse meist urticarieller Natur, hin und wieder mit allgemeinen Reaktionen wie Unruhe, Inappetenz, Fieber und örtliche Drüsenschwellung sind zu beobachten. Die Adsorbatimpfstoffe erzeugen manchmal kleine Granulome, die oft erst im Laufe mehrerer Monate resorbiert werden. Auch treten gelegentlich sterile Abszesse, die auf zu oberflächliche Injektion des Impfstoffes zurückgeführt werden, auf (105,109).

Die Zwischenfälle infektiöser und toxischer Natur sind auf technische Fehler bei der Herstellung des Impfstoffes zurückzuführen. So waren nach Tetanusschutzimpfungen zahlreiche Todesfälle zu beklagen, da das Toxoid noch Sporen enthielt. Impfkomplicationen allergischer Natur treten nach Impfungen mit gereinigtem Tetanus-Toxoid nur selten auf. Dies ist zum ersten auf den Umstand zurückzuführen, daß es keine latente Tetanusinfektion gibt und zum zweiten darauf, daß das gereinigte Tetanus-Toxoid ein sehr schwaches Allergen darstellt (109). Anders liegen die Verhältnisse nach der aktiven Immunisierung gegen Diphtherie. Hier muß mit einem häufigeren Kontakt des Organismus mit dem Erreger gerechnet werden. Die Kontaktmöglichkeiten nehmen mit fortschreitendem Alter zu. Die allergischen Reaktionen werden auf das Bakterieneiweiß zurückgeführt, das auch nach der Reinigung des Toxoids noch in geringen Spuren vorhanden ist (103,105). Neben

den allergischen Reaktionen wird nach der Diphtherieschutzimpfung auch auf die Möglichkeit der Exacerbation von Tuberkulose (105) und Poliomyelitis (95) hingewiesen. Als Ursache der Empfindlichkeit Tuberkulöser gegenüber dem Diphtherie-Toxoid wird eine parallergische Reaktionsweise angeführt (105). Außerdem werden neurale Komplikationen im Anschluß an die Diphtherieimpfung beschrieben (22).

2.3 Passive antitoxische Immunität

Nach einer Infektion mit Ektotoxinbildnern setzt die Toxinbildung rasch ein, ebenso ist das Toxin nach der Resorption sofort wirksam, auch wenn noch keine klinischen Symptome festgestellt werden können (45,86). Die Antikörperproduktion nach aktiver Immunisierung setzt zu spät ein um einen Einfluß auf Toxine, die bereits im Organismus sind, ausüben zu können. Deshalb wird versucht durch die passive Immunisierung, bei nicht oder nur ungenügend immunisierten Organismen, die Toxinwirkung zu verhindern. Bei der passiven Immunisierung werden Antitoxine aktiv Immunisierter auf die Gefährdeten übertragen (109,129).

2.3.1 Künstlich erworbene, passive Immunität gegen Ektotoxine

2.3.1.1 Anwendung von heterologem, antitoxischem Serum

VON BEHRING und KITASATO (4) zeigten als erste, daß das Serum von immunen Tieren nicht nur die Toxinwirkung bei der homologen sondern auch bei heterologen Tierarten verhindert. Auf diese Erkenntnisse aufbauend wurden Tiere, vor allem Pferde, Rinder und Schafe hyperimmunisiert, um Seren mit möglichst hohem Antitoxingehalt zu gewinnen (45,46,49,86,109).

In der BRD sind Antitoxinseren gegen Botulismus (Typ A,B,E), Diphtherie, Tetanus, Cl. perfringens, Cl.septicum, Cl.novyi und

Cl.histolyticum im Handel (142).

Praktische Bedeutung besitzen aber nur das Tetanus- und Botulinum-Antitoxin (49). Diphtherie- und Rausch- bzw. Gasbrandseren verloren durch andere Bekämpfungsverfahren, vor allem durch die Einführung von Sulfonamiden und Antibiotika, stark an Bedeutung (41,43,49,133).

Die Wirkung einer passiven Immunisierung mit heterologen Seren wurde hauptsächlich am Beispiel Tetanus untersucht. Die klassische prophylaktische Dosis für den Menschen wird mit 1.500 I.E. an- gegeben. Diese Dosis wurde empirisch festgelegt (109). Da sie sich aber in jüngerer Zeit häufig als zu niedrig erwies, wurde eine Er- höhung auf 3.000 - 5.000 I.E. gefordert (18,59,118). Die Verweil- dauer des Antitoxin von heterologem Serum beträgt im Patientenserum nach einer einmaligen Injektion, bei einer Halbwertszeit von 2 Tagen (62), 7 - 12 Tage (6,62,80,107). Wie Abb. 3 zeigt, kann durch eine Erhöhung der einmaligen Dosis die Verweildauer nicht wesentlich ver- längert werden (62,80,107). Die heterologen Antitoxine werden vom Organismus als artfremdes Protein erkannt und ab dem 7. Tag vermehrt abgebaut. Verantwortlich dafür sind neutralisierende Antikörper, sogenannte anti-Antikörper, die gegen dieses artfremde Protein vom Wirtsorganismus gebildet werden (129). Die geringe Wirksamkeit einer erneuten Injektion ist ebenfalls auf diese anti-Antikörper zurück- zuführen (25,104,106). Die Antitoxinkonzentration und die Verweil- dauer der Erstinjektion können nach wiederholten Injektionen nicht erreicht werden (106,118) (Abb. 4).

Man versuchte durch Auswechseln des Spenders bei erneuter Anwendung die Verweildauer der Antitoxine auch nach wiederholten Verabreichungen zu verlängern. Aber auch dann wurde eine beschleunigte Antitoxin-

ausscheidung nach Reinjektion beobachtet (106,107,108,111) (Abb.5). Es werden Kreuzreaktionen zwischen den Proteinen der einzelnen Tiergattungen dafür verantwortlich gemacht (111).

Eine Verbesserung erbrachte die Methode von SCHLEGEL (118). Er verwendete an Stelle von nativen Tetanusseren ausschließlich gereinigte, durch Proteolyse gewonnene Seren. Dadurch wurde eine schnellere Verteilung und eine längere Verweildauer der Antitoxine im Organismus erreicht. Ein, wenn auch geringerer, Wirksamkeitsverlust nach einer Reinjektion war aber auch damit nicht zu vermeiden (76).

Die heterologen, antitoxischen Seren stellen noch heute das wichtigste Bekämpfungsverfahren gegen Tetanus in den sogenannten Entwicklungsländern und in der Tiermedizin dar (129). In der BRD stehen zur Prophylaxe und Behandlung des Botulismus, der Diphtherie und des Rausch- und Gasbrandes nur heterologe Seren zur Verfügung (142). Die heterologen Anti-Tetanusseren für den Menschen wurden in Europa und Nordamerika durch die Verwendung von homologen antitoxischen Seren und vor allem durch die antitoxischen Gammaglobuline verdrängt (62,129).

2.3.1.2 Anwendung von homologem antitoxischem Serum

Um die Bildung von anti-Antikörpern zu vermeiden, ging man dazu über, homologe antitoxische Seren einzusetzen, vor allem zur Prophylaxe und Therapie des Tetanus beim Menschen. Der Organismus empfindet diese Seren nicht als Antigen und bildet keine Antikörper dagegen (41,49). Damit konnte der schützende Antitoxingehalt im Serum passiv Immunisierter über eine längere Zeit aufrecht erhalten werden. Sehr bald wurde aber festgestellt, daß die homologen humanen Seren die

Gefahr der Erregerübertragung in sich bergen. Vor allem die Gefahr einer Übertragung der Serumhepatitis war zu groß, um eine Anwendung am Menschen zu rechtfertigen (109).

2.3.1.3 Anwendung von antitoxischen Gammaglobulinen

Die Methode der Wahl für die passive Immunisierung des Menschen stellt heute die Anwendung antitoxischer Gammaglobuline dar. Dabei handelt es sich um die gereinigte und konzentrierte Antikörperfraktion von Seren hyperimmunisierter Menschen (41,49). Dieser Gammaglobulin-extrakt wird heute als virusfrei betrachtet (109). Die zur Anwendung gelangenden Präparate bestehen nahezu nur aus Immunglobulinen des Typs IgG mit geringen Anteilen von IgA (129). Die Gammaglobuline werden, wie übereinstimmend berichtet wird, sehr viel langsamer als die heterologen Antitoxine ausgeschieden (39,62,80,112,114,115,128,129). Die Dosis, die eine Tetanus-Erkrankung verhindert, liegt bei 250 - 500 I.E., während bei den heterologen Antitoxinen Titer zwischen 1.500 - 3.000 I.E. notwendig sind (39,62,63,75,80,112,114,115,128,129). Der schützende Antitoxintiter persistiert auch mehr als dreimal so lang, nämlich 3 - 5 Wochen (39,62,114,129). Die Halbwertszeit der Gammaglobuline liegt bei $5,4 \pm 0,9$ Tagen (17). Auch eine wiederholte Injektion ist ohne Wirksamkeitsverlust möglich (62,114,129). Interessanterweise kann die Verweildauer im Gegensatz zu den heterologen Antitoxinen durch die Applikation einer höheren Dosis Gammaglobuline verlängert werden (62).

2.3.2 Natürlich erworbene, passive Immunität gegen Ektotoxine

Die natürlich erworbene Immunität spielt nur bei der Bekämpfung des Tetanus neonatorum eine Rolle. Diese vom Nabel ausgehende Infektion tritt in den ersten zehn Lebenstagen auf, so daß die Zeit

für die Ausbildung einer aktiven Immunität zu kurz ist (84). Einen wirksamen Schutz bieten nur die über die Plazenta bzw. über das Kolostrum passiv von der Mutter übertragenen Antitoxine (84,122,123). Es wurde nachgewiesen, daß die Konzentration der passiv übertragenen Antitoxine im Serum der Neugeborenen direkt proportional ist dem Antitoxingehalt der Mutter (14,82). Es ist also angezeigt, durch eine aktive Immunisierung der Mutter einen ausreichend hohen Antitoxintiter zu erzeugen (84,122,123). SCHOFFIELD et al. (122) empfehlen für noch nicht aktiv immunisierte Frauen folgenden Impfplan für die Immunisierung mit flüssigem Tetanus-Toxoid:

1. Impfung so früh wie möglich während der Schwangerschaft,
2. Impfung 6 Wochen darauf,
3. Impfung im Laufe der letzten 3 Monate der Schwangerschaft.

Ferner während jeder weiteren Schwangerschaft eine erneute Auffrischungsimpfung.

Newell et al. (84) führen an, daß nach einer 2- oder 3maligen Impfung mit adsorbiertem Toxoid alle, die während der nächsten 5 Jahre geborenen Kinder einer so Geimpften, einen sicheren Schutz erhalten.

Bei Grundimmunisierten genügt eine Auffrischungsimpfung im letzten Drittel der Schwangerschaft, um dem Neugeborenen einen mehrere Wochen andauernden Schutz zu verleihen (14,38,57,65). Die Halbwertszeit der natürlichen passiven Antitoxine wird mit 21 - 28 Tagen angegeben (132).

2.3.3 Komplikationen nach passiver, antitoxischer Immunisierung

Neben der schon angeführten kurzen Verweildauer der heterologen Antitoxine, wird vor allem auf die Phänomene der Überempfindlichkeit des Empfängers nach Reinjektion von heterologen Seren hingewiesen (16,35,

60,93,111,121,129,130]. Allergische Reaktionen, wie anaphylaktischer Schock und Serumkrankheit, stellen Komplikationen dar, die eine wiederholte Injektion der heterologen Seren nicht zulassen (109). Durch die gereinigten Seren konnte das Vorkommen von Serumreaktionen vermindert, aber nicht ausgeschlossen werden (76, 118). Es wurden u.a. folgende Schädigungen nach Reinjektion heterologer Seren beschrieben: Gehirnerweichung (93), akute Neuritis (130) und tödliche Schocks (60). Auf die Gefahr der Erregerübertragung wurde bereits hingewiesen.

Durch die antitoxischen Gammaglobuline können diese Komplikationen vermieden werden (35,39,41,63,112,114,115,128,129).

2.4 Simultanimpfung gegen Ektotoxine

Die Simultanimpfung wird nur gegen die Ektotoxine von Cl.tetani beschrieben. Nach Verletzungen wird sie heute in der Human- und Tiermedizin häufig angewandt, vor allem bei Personen und Tieren, die nicht oder nur ungenügend geimpft sind, oder eine ungenaue Anamnese aufweisen (120).

Bei der Simultanimpfung wird gleichzeitig, jedoch örtlich verschieden, Antitoxin und Toxoid injiziert. Das Antitoxin dient der sofortigen Neutralisation des Toxins. Das Toxoid dagegen stimuliert eine aktive Immunität, die nach dem Absinken der passiv einverleibten Antitoxine den Schutz bewirkt (74,76). Diese Art der Impfung ist notwendig, weil in Tierversuchen festgestellt wurde, daß nach dem Verschwinden der passiven Immunität immer noch Toxin erzeugende Erreger vorhanden sind, die zu einem erneuten Aufflackern der Krankheit führen können (109).

Lange Zeit war die Wirksamkeit der Simultanimpfung gegen Tetanus

umstritten, denn es wurde angenommen, daß das Antitoxin das Toxoid sofort bindet. Das Toxoid kann damit nicht mehr an die antikörper-synthetisierenden Zellen herangeführt werden (13,15,27,119).

Andere Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß die Simultanimpfung gegen Tetanus nur eine geringe Abschwächung und auch nur eine zeitliche Verzögerung im Erscheinen körpereigener Antitoxine zur Folge hat (67,74,76,110,113,120). Eine Wiederholungsimpfung mit Toxoid, 21 -28 Tage nach der Simultanimpfung, stimuliert einen Booster-Effekt, der ebenso gut und schnell eintritt wie bei einer aktiven Grundimmunisierung ohne passive Antitoxine (19,76,110,140). Am 56. Tag, d.h. 28. Tage nach der 2. Impfung konnte im Serum kein Unterschied im I.E.-Gehalt festgestellt werden (76) (Abb. 6).

Es werden jedoch Einschränkungen für die Gültigkeit dieser Angaben aufgeführt. Die Ergebnisse scheinen nur mit einem Adsorbatimpfstoff zu erzielen sein, während das reine Toxoid deutlich unter diesen Werten bleibt (30,76,82). Ebenso wurde ein suppressiver Effekt auf die Entwicklung der aktiven Immunität bei der Verwendung von mehr als 10.000 I.E. heterologem Antitoxin (26) oder bei mehr als 400 I.E. homologem Antitoxin beobachtet (82,113).

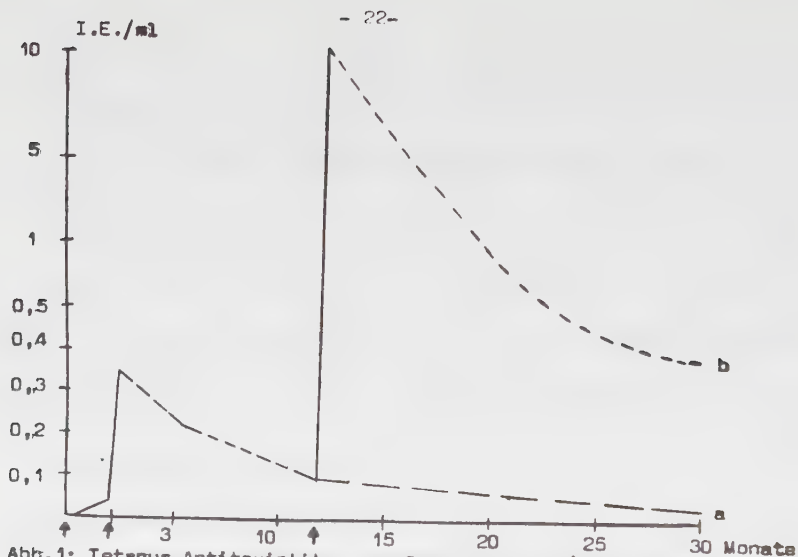


Abb. 1: Tetanus-Antitoxintiter von Personen die a) zwei Dosen und b) drei Dosen Tetanus-Toxoid erhielten (nach Evans(24))

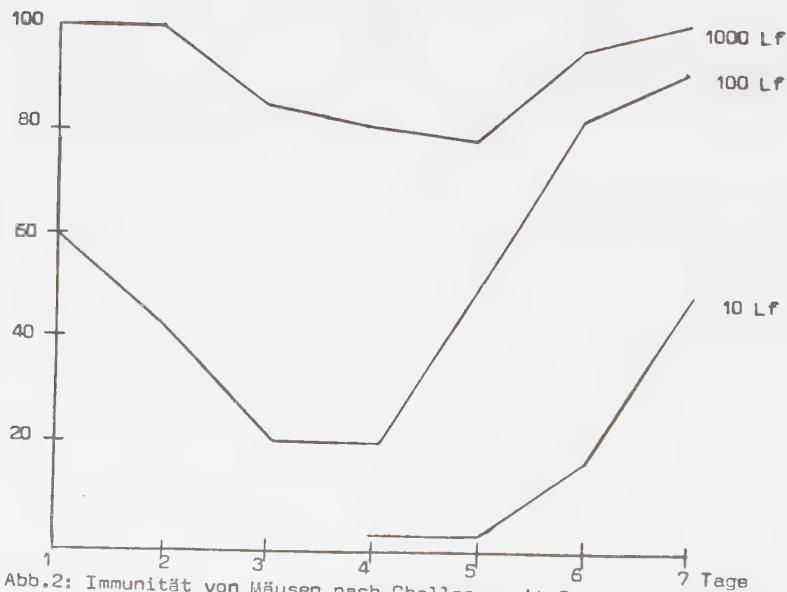


Abb. 2: Immunität von Mäusen nach Challenge mit 2 Dlm Tetanus-Toxin 1-7 Tage nach der Injektion von 10, 100, oder 1000 Lf Tetanus-Toxoid (nach Edsall(21))

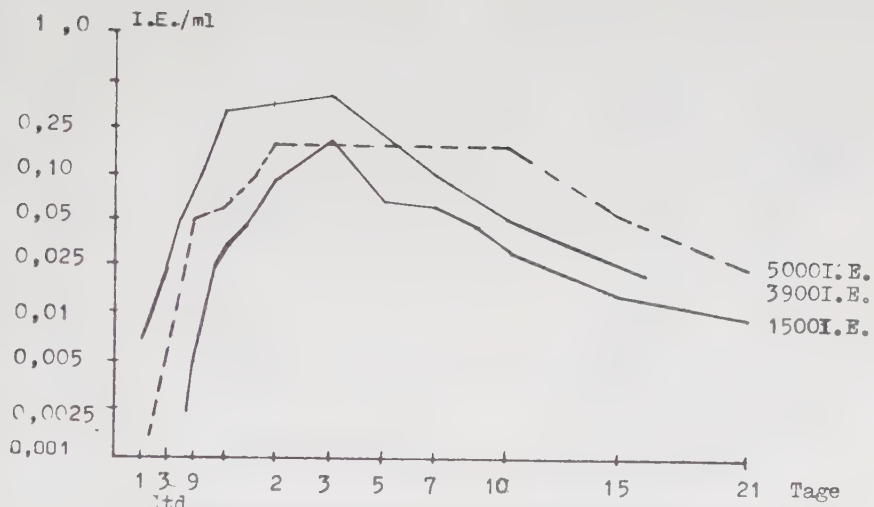


Abb. 3: Antitoxintiter im menschlichen Serum nach subkutaner Einspritzung von Tetanus-Antiserum. (nach Regamey (107))

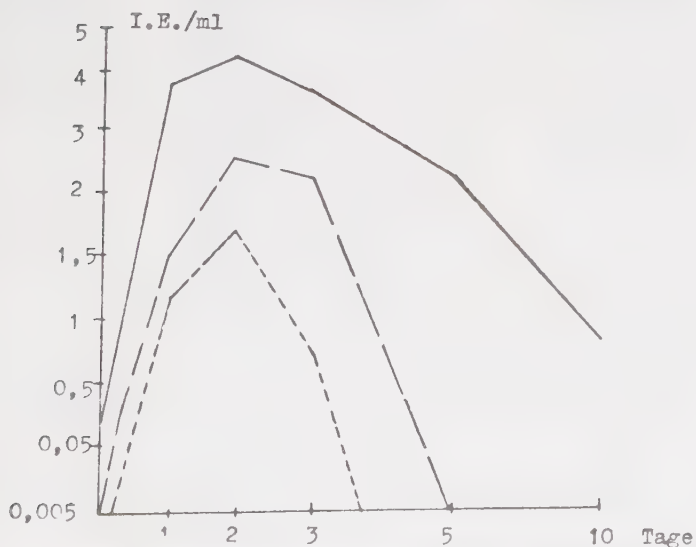


Abb. 4: Antitoxintiter nach 3maliger Injektion von anti-tetanischem Pferdeserum (0,5 I.E. je Gramm Kaninchen) im Abstand von je 15 Tagen. — 1. Einspritzung, — — 2. Einspritzung, - - - 3. Einspritzung. (nach Regamey (106))

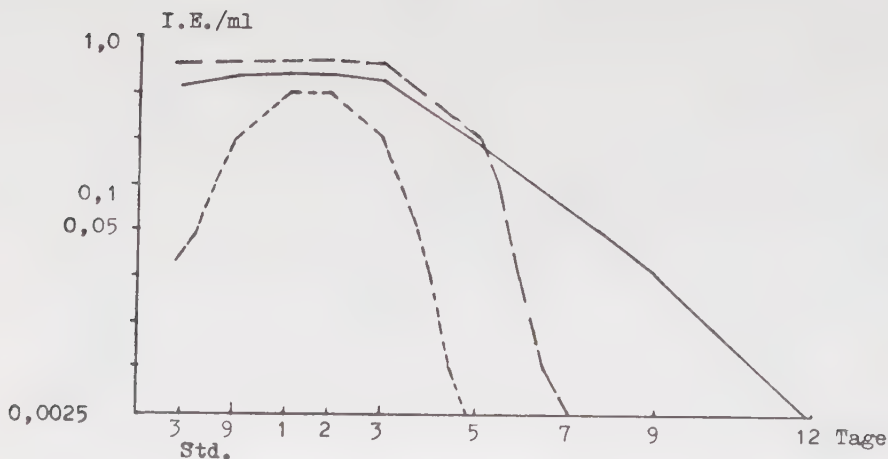


Abb. 5: Antitoxintiter von Kaninchen (Mittelwert von 3 Kaninchen) nach der Injektion von: — Meerschweinichenserum, — menschlichem Serum, - - Pferdeserum. Intervall zwischen den Injektionen je 3 Wochen. (nach Regamey (106))

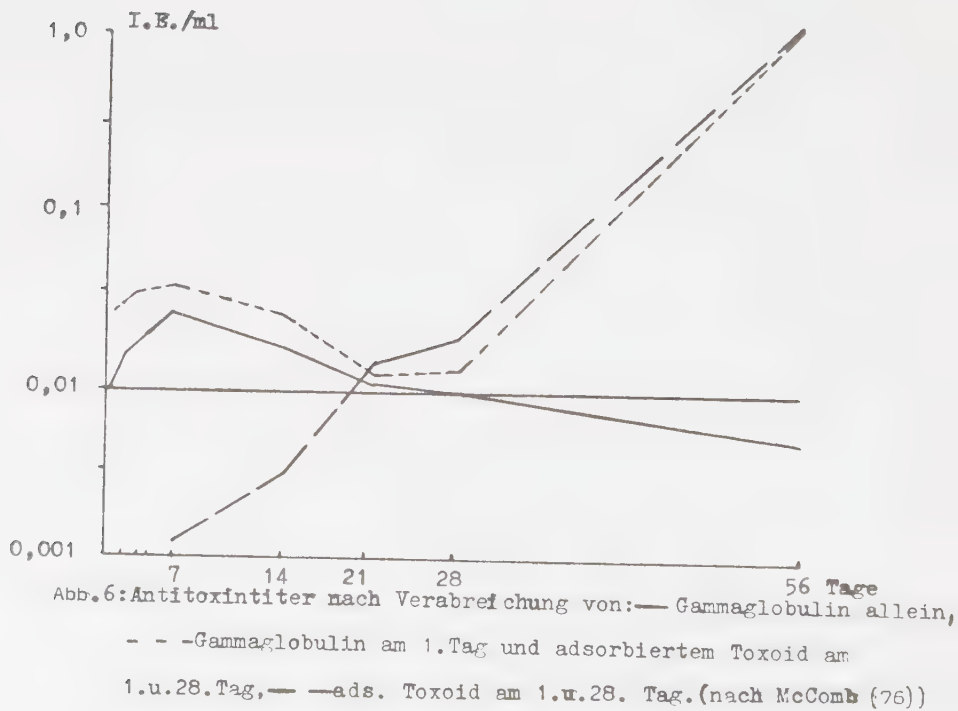


Abb. 6: Antitoxintiter nach Verabreichung von: — Gamma globulin allein, - - - Gamma globulin am 1. Tag und adsorbiertem Toxoid am 1. u. 28. Tag, — ads. Toxoid am 1. u. 28. Tag. (nach McComb (76))

Tabelle 1: In der BRD verwendete Impfstoffe gegen Ektotoxine

Impfstoff Fa. Name	Toxoid- Komponente	Dosierung(I.E.) Appl. Art	Impfschema	Auffrischimpfung nach jeweils +)
Diphtherie- Toxoid	Di-Toxoid (ads.)	altersgem. i.m.	2x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
T-Immun Haemoderivat	Te-Toxoid (ads.)	75 i.m.	2x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Tetanol	Te-Toxoid (ads.)	75 i.m.	2x im Abst. 4-8 Wochen u.n. 6-12 Mon.	5 Jahren
Teta- toxoid	Te-Toxoid	75 i.m.	2x im Abst. 6-12 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Di-Te-Tuss Asid	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	50 50 i.m.	3x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Di-Teta Toxoid	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	50 50 i.m.	2x im Abst. 6-12 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
DPT-Impf- stoff	Te-Toxoid Di-Toxoid (ads.)	50 50 i.m.	3x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
DPT-Ma	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	30 30 i.m.	3x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
DT-Impfstoff	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	50 50 i.m.	2x im Abst. 6-12 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Quatro- Virelon	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	30 30 i.m.	3x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Quinto- Virelon	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	30 30 i.m.	3x im Abst. 4-6 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren
Tri- Virelon	Di-Toxoid Te-Toxoid (ads.)	30 30 i.m.	2x im Abst. 4-12 Wochen u.n. 1 Jahr	5 Jahren

+) Impfung gegen Diphtherie nur während der ersten 12 Lebensjahre

Di-Toxoid = Diphtherie-Toxoid, Te-Toxoid = Tetanus-Toxoid

ads. = adsorbiertes Toxoid

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Versuchstiere

Es wurden NMRI-Mäuse und Meerschweinchen beiderlei Geschlechts verwendet.

Das Gewicht der Mäuse betrug bei Versuchsbeginn 16 - 18 Gramm. Die Mäuse wurden in Gruppen von jeweils 10 Tieren in Makrolonkäfigen gehalten. Die Fütterung erfolgte mittels Pellets der Fa. ALTRADIN, Lage/Lippe, die Tränke bestand aus in Tropfflaschen abgefülltem Leitungswasser. Beides wurde ad libitum angeboten.

Die Meerschweinchen hatten bei Versuchsbeginn ein durchschnittliches Gewicht von 250 - 300 Gramm. Sie wurden zu jeweils 2 Tieren in Makrolonkäfigen gehalten. Die Fütterung und Tränke entsprach der bei den Mäusen.

Die Kontrolltiere lebten unter den gleichen Bedingungen.

3.1.2 Impfstoff

In den meisten Tierversuchen verwendeten wir zur Immunisierung ein Tetanus-Toxoid-Konzentrat (Formol-Toxoid) (Kontroll-Nr. 569) der Fa. BEHRING-WERKE AG, Marburg/Lahn. Es enthielt 1000 Lf¹⁾ pro ml. Dieses Toxoid diente als Standard-Impfstoff.

1) Lf = Limes flocculationis = Flockungseinheit. Sie entspricht der Toxinmenge, die von 1 I.E. Tetanus-Antitoxin neutralisiert wird.

Daneben fanden aber auch selbsthergestellte Toxoide Verwendung und zwar ein Formol-Toxoid und zwei unterschiedlich hitzeinaktivierte Tetanus-Toxoide. Zur Herstellung des Formol-Toxoids (Toxoid III) wurde Tetanus-Toxin mit 3 % Formalin versetzt und 24 Std bei 37 °C inkubiert. Die Inaktivierung des Toxins mittels Hitze erfolgte einmal bei 98°C für 1 Std. (Toxoid I) und zum anderen bei 56°C für 1 Std. (Toxoid II).

3.1.3 Immunisierung

Die Einzeldosis bei der oralen Applikation des Impfstoffes betrug für die Mäuse 100 und 200 Lf, bei der nasalen Applikation 100 Lf und bei der subkutanen Impfung 2 Lf Tetanus-Toxoid.

Die Toxoid-Dosis wurde oral in 0,1 bzw. 0,2 ml, nasal in 0,1 ml und subkutan in 0,5 ml verabreicht. Die Einzeldosis für Meerschweinchen betrug bei der oralen Applikation des Impfstoffes 2000 Lf und bei der subkutanen 20 Lf.

Die Immunisierung erfolgte auf folgende Arten:

1. Der Impfstoff wurde mit einer Schlundsonde eingegeben, die bis zum Übergang des oberen in den mittleren Teil des Oesophagus reichte. Als Sonde diente eine in der Mitte im stumpfen Winkel abgebogene Knopfkanüle.
2. Mit einer kurzen Knopfkanüle wurde das Toxoid in die Mundhöhle geträufelt (Tropfmethode).
3. Das Toxoid wurde mit Trinkwasser verdünnt den Tieren
 - a) in normalen Trinkflaschen und
 - b) im Tränkebecken zum Trinken angeboten.

Die Flüssigkeitsmenge war so bemessen, daß das Toxoid innerhalb von 24 Std. aufgenommen wurde. Um eine sichere und rasche Aufnahme zu erreichen, wurde den Versuchstieren 24 Std. zuvor das Trinkwasser

entzogen.

4. Mittels einer Magensonde wurde das Tetanus-Toxoid direkt in den Magen appliziert.

5. Das Tetanus-Toxoid wurde unter Äthernarkose in die Nasenhöhle geträufelt.

6. Parallel zu den lokal immunisierten Tieren wurden parenteral immunisierte untersucht. Die parenterale Impfstoffapplikation erfolgte in Form von subkutanen Injektionen unter die Rückenhaut.

3.1.4 Speichelgewinnung

Zur Anregung des Speichelflusses wurde Mäusen Physostigmin subkutan unter die Rückenhaut injiziert. Die Dosis betrug je nach Größe des Tieres 0,2 - 0,3ml einer 0,01 %igen Lösung. Nach Einsetzen des Speichelflusses wurde mit Hilfe einer Knopfkanüle und einer darauf aufgesetzten Tuberkulinspritze der Speichel aus der Mundhöhle abgesaugt. Auf diese Weise konnte von 25 Mäusen ca. 1 ml Speichel gewonnen werden.

3.1.5 Belastungsversuche

Am 18. Tag nach der letzten Immunisierung wurden die Versuchstiere der Testbelastung unterzogen. Die Belastung erfolgte subkutan, in einem Versuch intranasal, mit einem Tetanus-Toxin der Fa. BEHRING-WERKE, Marburg/Lahn. Das in getrocknetem Zustand vorliegende Toxin wurde bei + 4°C unter Vermeidung von Lichteinwirkung aufbewahrt.

Das Toxin wurde für Mäuse und Meerschweinchen getrennt titriert und die LD₅₀ für jede Tierart nach der Methode von REED und MUENCH berechnet. Die Belastungsdosis betrug in allen Versuchen 10 LD₅₀. Die intranasale Belastung erfolgte ebenfalls mit einer Toxindosis von 10 LD₅₀. Sie wurde durch intranasale Titration bei Mäusen

bestimmt. Die Toxindosis für die intranasale 10 LD₅₀ lag 1000mal höher als bei der subkutanen Belastung.

Parallel zu den Impfungen wurden jeweils ungeimpfte, gleichaltrige und gleich schwere Kontrollen geprüft. Die Belastungsdosis war so eingestellt, daß in allen Belastungsversuchen 100 % der Kontrolltiere innerhalb von 2 Tagen starben.

3.1.6 Auswertung der Belastungsversuche

Der Verlauf der Belastungsversuche wurde über eine Dauer von 4 Tagen beobachtet. Die Beurteilung erfolgte nach folgenden Kriterien:

Tiere, die während der 4-tägigen Beobachtungszeit keine ausgeprägten für einen lokalen oder generalisierten Tetanus typischen Symptome zeigten und deren Allgemeinbefinden in dieser Zeit nicht gestört war, galten als immun. Traten jedoch bei den Impfungen tetanische Symptome in Form geringgradiger bis starker Lahmheit der hinteren Extremitäten bzw. Zeichen eines generalisierten Starrkrampfes auf, oder kamen die Tiere innerhalb von 4 Tagen durch das Toxin zu Tode, so wurden sie als nicht immun bezeichnet. Letzteres war bei den ungeimpften Kontrollen ausnahmslos der Fall.

Der durch die Immunisierung erzielte Wirksamkeitsindex (W) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$W = \frac{a - b}{a} \cdot 100$$

a = Zahl der belasteten Tiere

b = Zahl der nach der Belastung gestorbenen Tiere

3.1.7 Serumgewinnung

Das für die serologische Untersuchung benötigte Blut wurde am 18. Tag nach der letzten Impfstoffgabe durch Dekapitation der Mäuse gewonnen. Das Blut von jeweils 10 Impflingen pro Versuchsgruppe wurde gepoolt.

Die Lagerung der Seren erfolgte bis zum Zeitpunkt der Auswertung bei -20°C .

3.1.8 Antitoxinbestimmung

Die Seren der geimpften Mäuse untersuchten wir auch auf den Gehalt an Serumantitoxinen. Die Bestimmung des Antitoxintiters in Internationalen Einheiten (I.E.) wurde nach der L+ - Methode ¹⁾ durchgeführt. Die Auswertung erfolgte durch den Vergleich der Totwerte der mit dem zu prüfenden Antitoxin injizierten Tiere mit den Totwerten der mit dem Standard-Antitoxin injizierten Kontrolltiere. Als Standard verwendeten wir ein Tetanus-Antitoxinserum mit einem Titer von 10 I.E. pro ml, das uns von der Fa. BEHRING-WERKE AG, Marburg/Lahn zur Verfügung gestellt wurde. Pro Serumverdünnung wurde eine Maus angesetzt. Alle geprüften Seren mit einem Titer unter 0,02 I.E. pro ml wurden als negativ bewertet.

1) L+ - Dosis = Limes mortis = die Toxinmenge, die mit 1 I.E. Antitoxin gemischt, eine Maus in 96 Stunden tötet.

3.2 ERGEBNISSE

3.2.1 Ergebnis der Belastungsversuche nach einmaliger, unterschiedlicher Applikation des Tetanus-Toxoids bei Mäusen

Anders als bei den parenteralen Impfverfahren wird bei den lokalen Impfverfahren die Wirksamkeit sehr stark durch die Art der Applikation beeinflusst. Zur Bestimmung der günstigsten lokalen Impfung immunisierten wir Mäusegruppen vergleichend nach folgenden Verfahren (s. Material und Methoden):

1. Mit einer Magensonde unter Umgehung des oberen Digestionstraktes direkt in den Magen um einen Abbau in der Mundhöhle auszuschließen.
2. Durch Aufträufeln des Toxoids auf die Mundschleimhäute und zwar so, daß durch eine lange Verweildauer im Mund eine Resorption über die Mundschleimhäute möglich war.
3. Mit einer Schlundsonde
4. Mit dem Trinkwasser vermischt und zwar einmal über normale Tränkeflaschen und zum anderen über ein Tränkebecken. Dieses Becken sollte die Mäuse zwingen beim Trinken das Maul in das Trinkwasser zu tauchen um damit einen intensiveren Kontakt mit den Mundschleimhäuten zu gewährleisten.
5. Durch intranasale Applikation des Tetanus-Toxoids.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb. 7 zusammengefaßt.

Durch die Verabreichung des Toxoids direkt in die Mundhöhle erzielten wir einen Wirksamkeitsindex von 75 und damit das beste Ergebnis der oralen Impfmethode. Bei dieser Art der Toxoidgabe zog sich der Impfvorgang ca. 1 Minute hin, und das Toxoid hatte genügend Zeit mit den Schleimhäuten des oberen Digestions- und Respirations-

traktes in Kontakt zu kommen. Keine Immunität war nach der Applikation des Toxoids direkt in den Magen nachweisbar. Dagegen bildeten die Tiere auch nach einer oralen Impfung mittels Schlundsonde eine Immunität aus. Mit der Schlundsonde wurde das Toxoid ungefähr bis zum Übergang des oberen in den mittleren Teil des Oesophagus gebracht. Der relativ gute Index von 55 scheint zunächst den Ergebnissen mit der Tropfmethode und der Magensonde zu widersprechen. Wir haben aber festgestellt, daß bei der Applikation in den Oesophagus praktisch immer ein Teil des Toxoids von den Tieren regurgitiert wurde und somit auch in intensiven Kontakt mit den Schleimhäuten der Mundhöhle kommt. Da aber sicher ein Teil sofort abgeschluckt wird, ergibt sich ein etwas niedrigerer Wirksamkeitsindex als bei der Verabreichung direkt in die Mundhöhle.

Eine Diskrepanz zu diesen Ergebnissen stellt die Trinkwasserimpfung dar. Hier wird das Toxoid über die Mundhöhle aufgenommen und trotzdem erzielen wir keine Immunität. Das Versagen der Trinkwasserimmunisierung ist entweder darauf zurückzuführen, daß grundsätzlich beim Trinkvorgang der Maus wegen der Schnelligkeit des Schluckaktes der Kontakt der Flüssigkeit mit den Mundschleimhäuten zu kurz ist oder, daß bei Verwendung der normalen Tränkeflasche der Kontakt mit den Mundschleimhäuten nicht möglich ist und das Toxoid direkt über die Zunge abgeschluckt wird. Um den letzteren Punkt ausschließen zu können, boten wir einer Mäusegruppe das Trinkwasser in einem Tränkebecken an. Aber auch dann war keine Immunität zu erzielen, selbst nicht bei einer Erhöhung der Dosis auf 2000 Lf Tetanus-Toxoid pro Maus.

Eine Rolle könnte dabei der Abbau des Toxoids im Trinkwasser,

während der 24-stündigen Immunisierungszeit, spielen. Die subkutane Verabreichung von 2 Lf Tetanus-Toxoid, das 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Trinkwasser gelöst war, brachte aber den gleichen Wirksamkeitsindex wie frisches Toxoid. Damit kann der Abbau des Impfstoffes als Ursache für die fehlende Immunität nach der Trinkwasserimpfung ausgeschlossen werden.

Wie Abb. 7 weiter zeigt, waren die Immunisierungsergebnisse, die mit der intranasalen Applikation erreicht wurden deutlich besser, als mit der oralen Applikation. Obwohl wir nur die halbe Toxoiddosis der oralen Impfung verwendeten, lag der Wirksamkeitsindex bei 85 und damit um 10 Einheiten über dem der günstigsten oralen Impfung. Eine Erhöhung der nasalen Dosis auf 200 Lf in 0,2 ml war aus technischen Gründen nicht möglich.

Diese Ergebnisse bedeuten, daß eine lokale Tetanus-Impfung vor allem über die Mund- bzw. Nasenschleimhäute möglich ist. Da die Mundschleimhäute und auch ein Teil der Nasenschleimhäute in ständigem Kontakt mit Speichel sind, prüften wir den Einfluß des Speichels auf das Tetanus-Toxoid. Dazu inkubierten wir Mäusespeichel verschieden lang und mit verschiedenen Toxoidkonzentrationen bei 37°C und verimpften anschließend das Gemisch subkutan an Mäuse. Die immunisierende Wirkung des Toxoids blieb aber in allen Fällen erhalten. Der Wirksamkeitsindex lag bei behandeltem und unbehandeltem Toxoid bei 100. Der Speichel verhält sich dem Tetanus-Toxoid gegenüber vollkommen neutral (s. Abb. 8).

3.2.2 Ergebnis nach zeitlich unterschiedlicher Belastung von einmal mit Tetanus-Toxoid immunisierten Mäusen

Es ist bekannt, daß nach einer oralen Immunisierung mit bakteriellen

Vollantigenen der Immunschutz schneller eintritt als nach parenteraler Impfung (96). Ob dies auch für eine lokale Impfung mit Toxoid zutrifft, prüften wir in einem vergleichenden Versuch, in dem wir jeweils 5 Gruppen von Mäusen oral in die Mundhöhle, nasal und subkutan mit Tetanus-Toxoid immunisierten. Nach 5, 10, 15, 30 und 50 Tagen wurde je eine Gruppe der Testbelastung unterzogen.

Abb. 9 zeigt, daß die Immunität nach oraler und nasaler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid anders verläuft als nach parenteraler Impfung.

Am 5. Tag nach der Impfung hatten schon 20 % der oral und nasal geimpften Tiere eine belastbare Immunität und keines der parenteral geimpften Tiere. Während aber der Wirksamkeitsindex nach der oralen und nasalen Impfung nur relativ langsam anstieg und zwar gleichmäßig bis zum 30. Tag mit einem maximalen Wirksamkeitsindex von 90 für die orale und von 93 für die nasale Impfung, erreichte die subkutane Impfung schon am 10. Tag ihren Höchstwert, den sie über den Zeitraum von 50 Tagen beibehielt. Dieses Ergebnis ist interessant, denn es besagt, daß bei der bisher am 18. Tag gemessenen Immunität nach lokaler Impfung nicht der optimale Index erreicht wurde. Dieser erscheint erst am 30. Tag post vaccinationem.

3.2.3 Ergebnis der Belastungsversuche nach einmaliger lokaler Immunisierung mit verschiedenen Tetanus-Toxoidpräparationen bei Mäusen

Für die parenterale Impfung gegen Tetanus hat sich das Formol-Toxoid bewährt. Es könnte jedoch sein, daß an Toxoide für die orale Immunisierung andere Maßstäbe angelegt werden müssen. Wir impften darum vergleichend Mäuse mit Toxoiden eigener Herstellung und mit dem bisher verwendeten Standard-Toxoid.

Die Ergebnisse sind in Abb. 10 zusammengestellt.

Die Formol-Toxoiden und zwar sowohl das Standard-Toxoid als auch das selbst hergestellte Toxoid lieferten die gleichguten Ergebnisse, die bei einem Wirksamkeitsindex von 78 bzw. 80 lagen. Die verwendeten "Hitze-Toxoiden" waren unwirksam. Wir können also annehmen daß sich das Tetanus-Formol-Toxoid auch für die lokale Immunisierung sehr gut eignet.

3.2.4 Ergebnis nach nasaler Belastung von nasal und parenteral mit Tetanus-Toxoid immunisierten Mäusen

Bisher wurden sowohl die lokal als auch die subkutan immunisierten Mäuse subkutan belastet. Dies könnte ein Vorteil für die subkutane Immunisierung bedeuten. Wir überprüften deshalb im folgenden Versuch die Immunität nach nasaler bzw. subkutaner Impfung durch eine nasale Belastung mit 10 LD₅₀ Tetanus-Toxin. Die Ergebnisse entsprachen jedoch denen nach subkutaner Belastung (Abb. 11).

Der Wirksamkeitsindex der nasal immunisierten Mäuse lag bei 80, der der subkutan immunisierten Tiere bei 100. Der Grad der Immunität ist also unabhängig von der Art der Belastung.

3.2.5 Ergebnis der Belastungsversuche nach mehrmaliger lokaler und parenteraler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen

Durch die nasale Immunisierung konnte eine bessere Immunität erzeugt werden als durch die orale. Es war nun interessant zu prüfen, ob sich bei der nasalen Immunisierung, genau wie bei der oralen Immunisierung (125), der Wirksamkeitsindex durch eine Erhöhung der Anzahl der Impfungen noch weiter steigern läßt. Dazu impften wir Mäuse nasal 2mal im Abstand von 10 Tagen, 3mal an 3 aufeinanderfolgenden Tagen und 3mal im Abstand von je 3 Tagen und vergleichend subkutan 2mal im Abstand von 10 Tagen. Die Einzeldosis betrug bei

der nasalen Impfung 100 Lf und bei der subkutanen 2 Lf. Die Ergebnisse sind in Abb. 12 dargestellt, in der zum Vergleich die Ergebnisse mit der oralen Impfung aus früheren Untersuchungen (125) mitaufgeführt sind.

Wie diese Abbildung verdeutlicht, ist die nasale Impfung der oralen Impfung überlegen. Den besten Wirksamkeitsindex von 100 erreichten wir sowohl durch die 3malige Applikation von Toxoid im Abstand von je 3 Tagen als auch durch die 3malige Impfung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Bei der oralen Impfung war mit dem letzteren Impfvorgang nur eine geringe Wirksamkeitssteigerung zu erreichen. Eine 2malige Impfung hat wie bei der oralen Impfung nur einen geringen Anstieg des Wirksamkeitsindex zur Folge, nämlich von 85 auf 90.

3.2.6 Ergebnis der Belastungsversuche nach lokaler und parenteraler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Meerschweinchen

Diese Versuche an Meerschweinchen sollten klären, ob es möglich ist, die an Mäusen gewonnenen Ergebnisse auch auf andere Tierarten zu übertragen. Wir wählten das Meerschweinchen aus, weil es im Gegensatz zur Maus, zu der Gruppe der für Tetanus hoch empfänglichen Tierarten gehört.

Die Ergebnisse sind in Abb. 13 enthalten.

Die subkutan und die mit der Schlundsonde oral geimpften Meerschweinchen überlebten alle eine Belastung mit einer Toxindosis von 10 LD₅₀. Dagegen war es auch bei den Meerschweinchen nicht möglich, eine Immunität durch die Trinkwasserimmunisierung zu erreichen. Alle Meerschweinchen starben nach der Testbelastung. Die Einzeldosis Tetanus-Toxoid lag bei den Meerschweinchen um das 10fache höher als bei den Mäusen. Dies entsprach dem Gewichtsunterschied der beiden Tierarten.

3.2.7 Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen nach verschiedenen lokalen Immunisierungsverfahren mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen

Die Ergebnisse der Antitoxinuntersuchungen gepoolter Serumproben nach einmaliger lokaler Impfung im Vergleich zur subkutanen Toxoidapplikation sind in Abb.14 zusammengefaßt.

Keine Antitoxine konnten bei der Toxoidapplikation mit der Magensonde nachgewiesen werden. Ebenfalls negativ verliefen die Untersuchungen auf Antitoxine bei den Seren von Mäusen, die das Toxoid über das Trinkwasser aufgenommen hatten. Es spielte dabei keine Rolle, ob wir eine Antigendosis von 200 Lf oder 2000 Lf an das Einzeltier verabreichten. Auch konnte kein Unterschied festgestellt werden zwischen Mäusen, die das Toxoid über die Tränkeflasche erhalten hatten und Mäusen, die das Toxoid über das Tränkebecken aufnahmen. Die Versuchsgruppe, die das Toxoid mit der Schlundsonde erhalten hatte, war im Ergebnis etwas schlechter, als die Versuchsgruppe, der das Toxoid in die Mundhöhle getropft wurde. Der I.E.-Gehalt der subkutan geimpften Versuchstiere und der oral Geimpften lag bei 0,05 pro ml Serum. Einen etwas höheren Titer von 0,06 I.E. pro ml erbrachte die Serumuntersuchung bei den nasal geimpften Mäusen.

3.2.8 Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen nach mehrmaliger nasaler, oraler und subkutaner Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen

Das Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen nach mehrmaliger Tetanus-Toxoid Verabreichung war überraschend. Die intranasale Immunisierung erwies sich im Gegensatz zu den Ergebnissen aus den Belastungsversuchen

den subkutanen Impfungen ebenbürtig. Nach einer 2maligen Immunisierung im Abstand von 10 Tagen lag der Antitoxintiter bei beiden Impfverfahren deutlich über 5 I.E. pro ml Serum. Den gleich hohen Antitoxintiter erbrachte auch die 3malige Impfung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Deutlich schwächer war der Antitoxintiter der 3mal im Abstand von 3 Tagen immunisierten Mäuse. Der Antitoxintiter von 0,5 lag auf dem gleichen Niveau wie der, der oral immunisierten Mäuse. Die Ergebnisse sind in Abb. 15 zusammengefaßt.

Abb. 7: Wirksamkeit einer lokalen Immunisierung von Mäusen mit Tetanus-Toxoid bei unterschiedlicher Applikation des Impfstoffes

Applikationsart	Applikationsort	Impfdosis pro Maus	Wirksamkeitsindex
Magensonde	Magen	200 Lf in 0,2ml	0
Schlundsonde	Mitte Oesophagus	200 Lf in 0,2ml	55
Mundsonde	Mundhöhle	200 Lf in 0,2ml	75
intranasal	Respirationstrakt	100 Lf in 0,1ml	85
Trinkwasser:			
a) Tränkeflasche		2000 Lf in 5 ml	0
b) Tränkebecken		2000 Lf in 5 ml	0

Wirksamkeitsindex

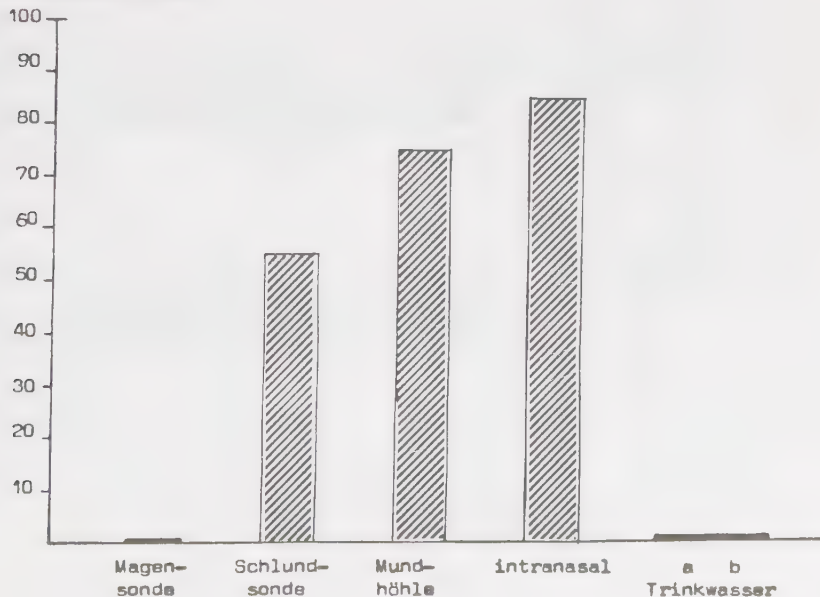


Abb. 8: Einfluss von Mäusespeichel auf die Immunogenität des Tetanus-Toxoids

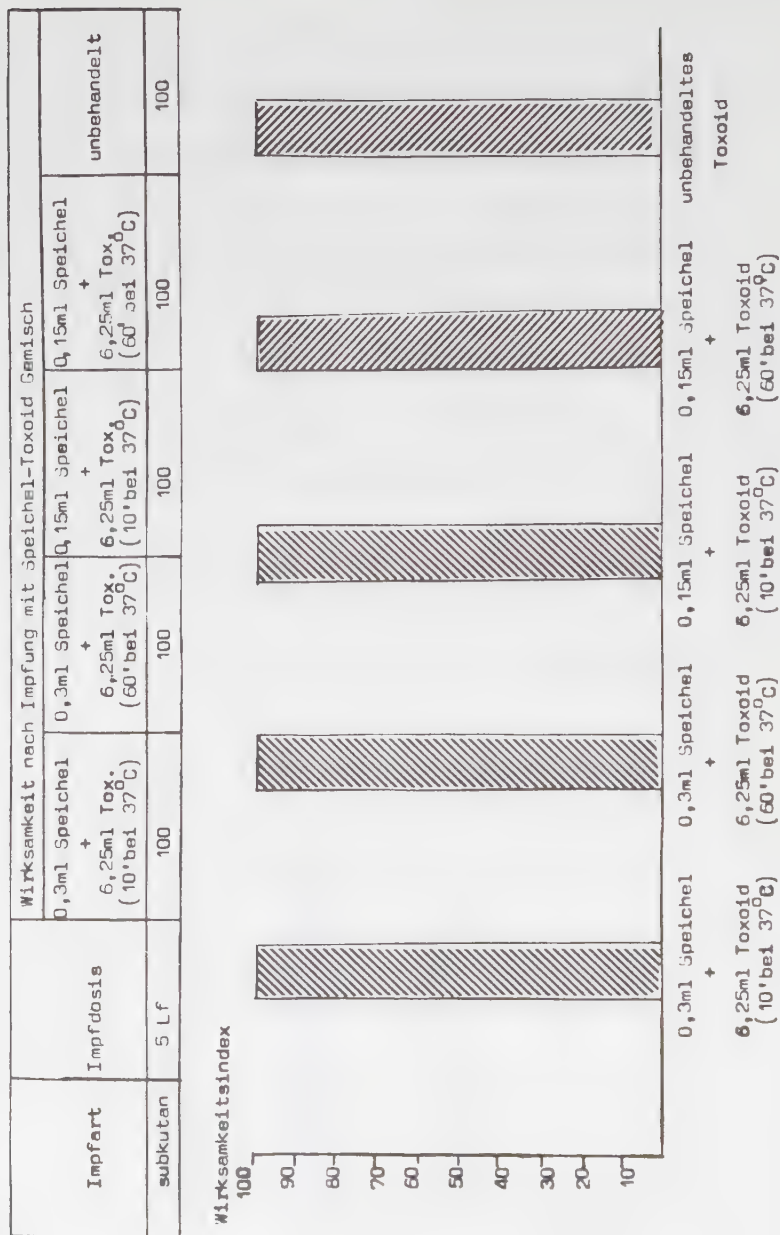


Abb. 9: Zeitlich unterschiedliche Entwicklung des Impfschutzes nach oraler, nasaler und subkutaner Immunisierung von Mäusen mit Tetanus-Toxoid

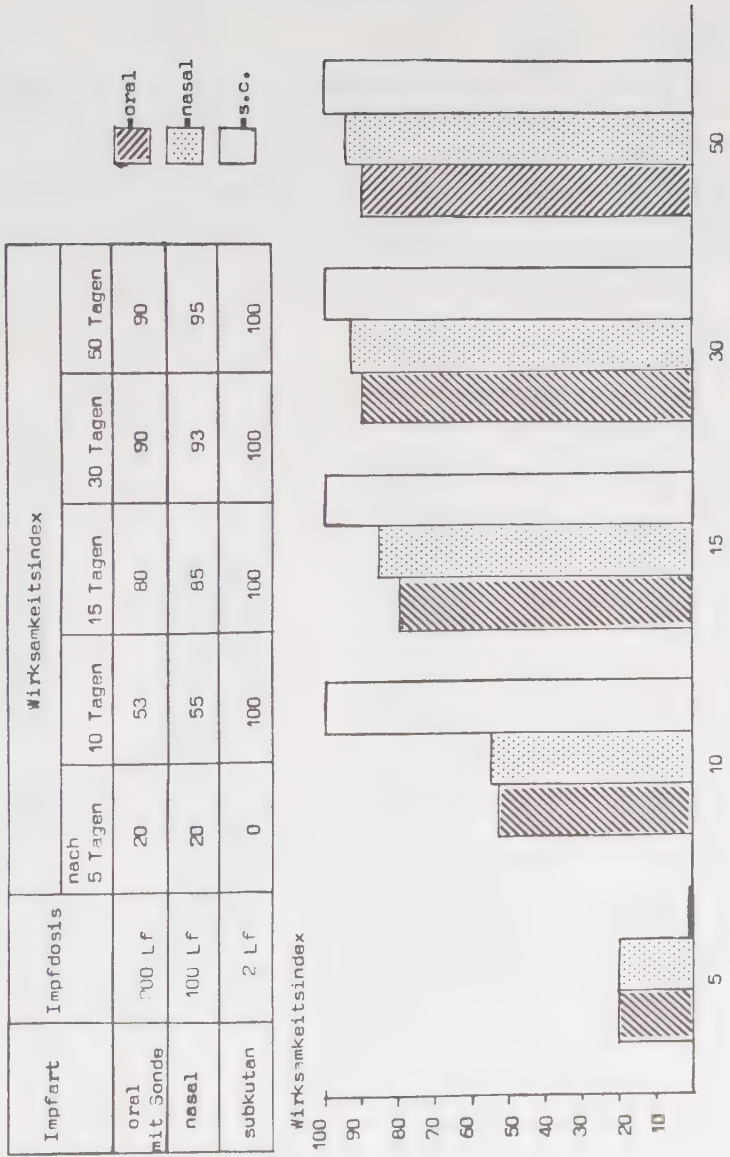


Abb.10: Wirksamkeit von unterschiedlich inaktiviertem Tetanustoxin
nach oraler Applikation bei Mäusen

Impfart	Impfdosis	Wirksamkeitsindex der verschiedenen Toxoide			
		Toxoid I (1 Std. 98°C)	Toxoid II (1 Std. 56°C)	Toxoid III (3% Formalin)	Toxoid IV (Standard)
oral mit Sonde	100 Lf	0	0	78	80

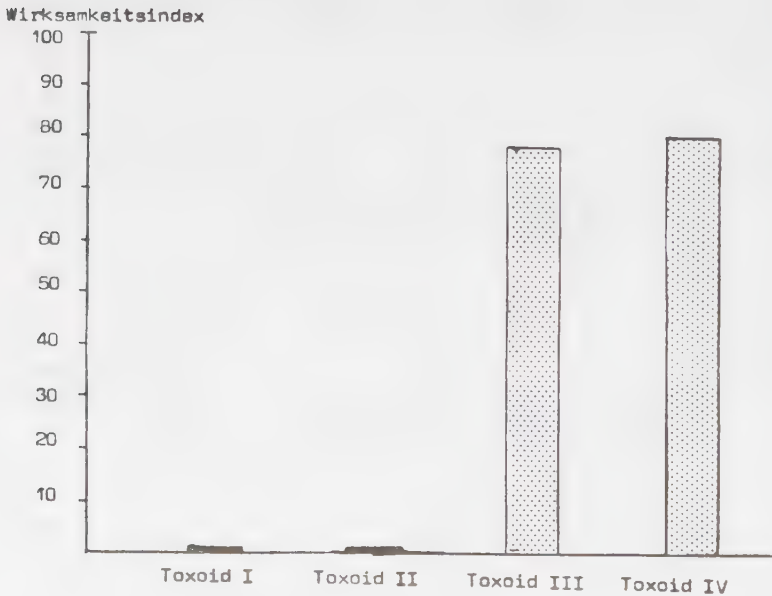


Abb.11: Ergebnis nach nasaler Belastung von nasal und parenteral
mit Tetanus-Toxoid immunisierten Mäusen

Impfart	Impfdosis	Anzahl der geimpften Tiere	Belastung mit 10 LD ₅₀ Te-Toxin	Wirksam- keitsindex
subkutan	2 Lf	20	nasal	100
nasal	100 Lf	20	nasal	80

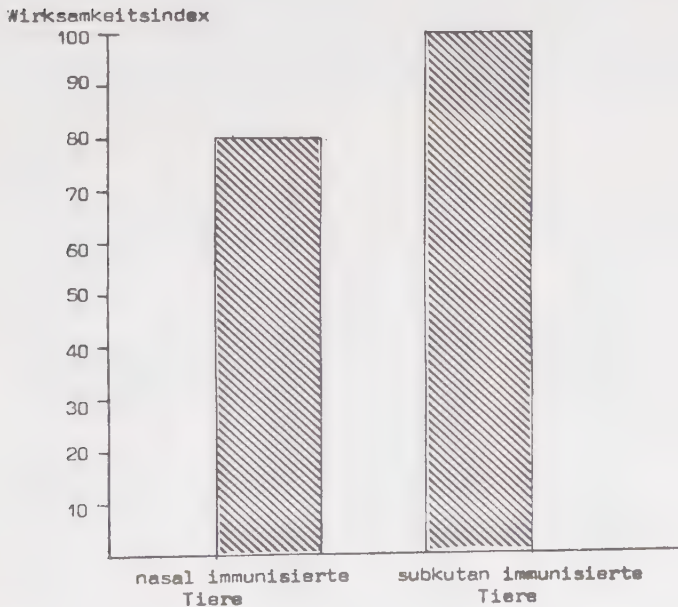


Abb.12: Ergebnis der Belastungsversuche nach mehrmaliger lokaler und parenteraler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Mäusen

Applikationsart	Impfmodus	Einzel-dosis	Wirksamkeitsindex
subkutan	2x im Abstand von 10 Tagen	2 Lf	100
nasal		100 Lf	90
Schlund-sonde		200 Lf	70
nasal	3x an 3 aufeinander-folgenden Tagen	100 Lf	100
Schlund-sonde		200 Lf	80
nasal	3x im Abstand von je 3 Tagen	100 Lf	100
Schlund-sonde		200 Lf	100

Wirksamkeitsindex

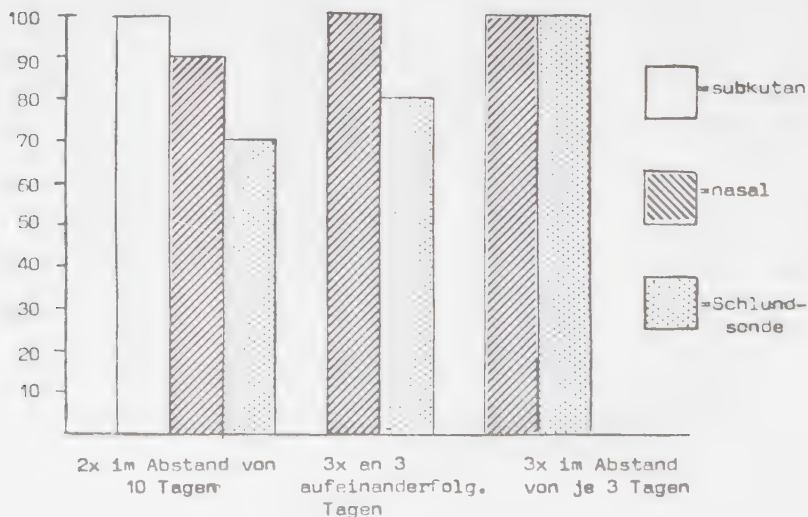


Abb. 13: Ergebnis der Belastungsversuche nach lokaler und paranteraler Immunisierung mit Tetanus-Toxoid bei Meerschweinchen

Applikationsart	Impfmodus	Einzeldosis	Zahl der geimpften Tiere	Zahl der nach der Belastung mit 10 LD ₅₀ Tetanus-Toxin	
				gestorbenen Tiere	Überlebenden Tiere
Schlundsonde	3x an 3 aufeinanderfolgenden Tagen	2000 Lf	4	—	4
Tränkeflasche	3x an 3 aufeinanderfolgenden Tagen	2000 Lf	4	4	—
subkutan	3x an 3 aufeinanderfolgenden Tagen	2000 Lf	4	—	4

Abb. 14: Überblick über den Antitoxingehalt von Mäuseren nach einer einmaligen unterschiedlichen

lokalen und parenteralen Immunisierung mit Tetanus-Toxoid

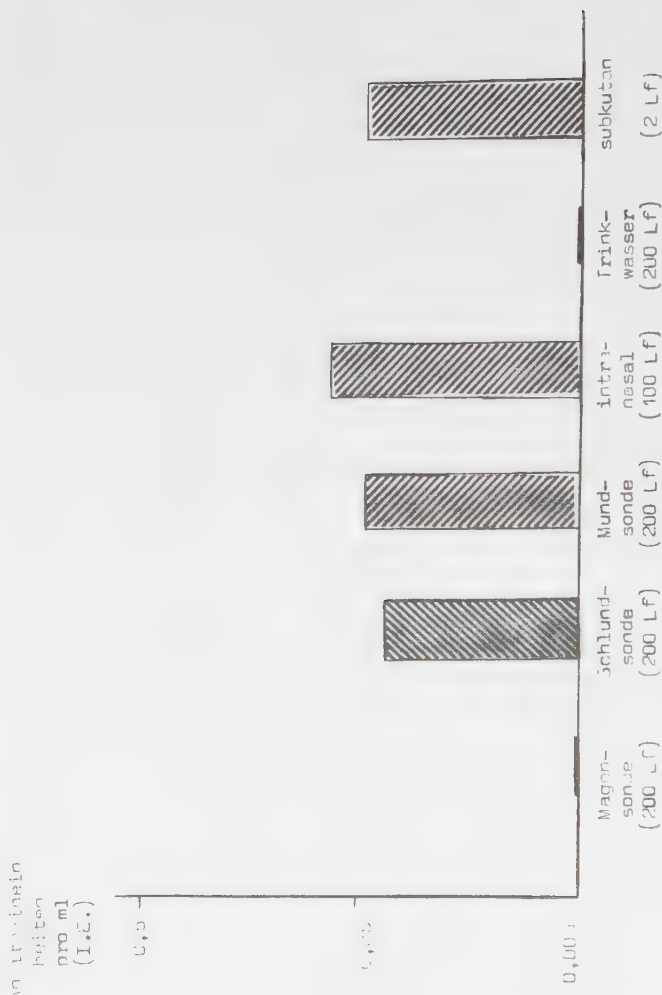
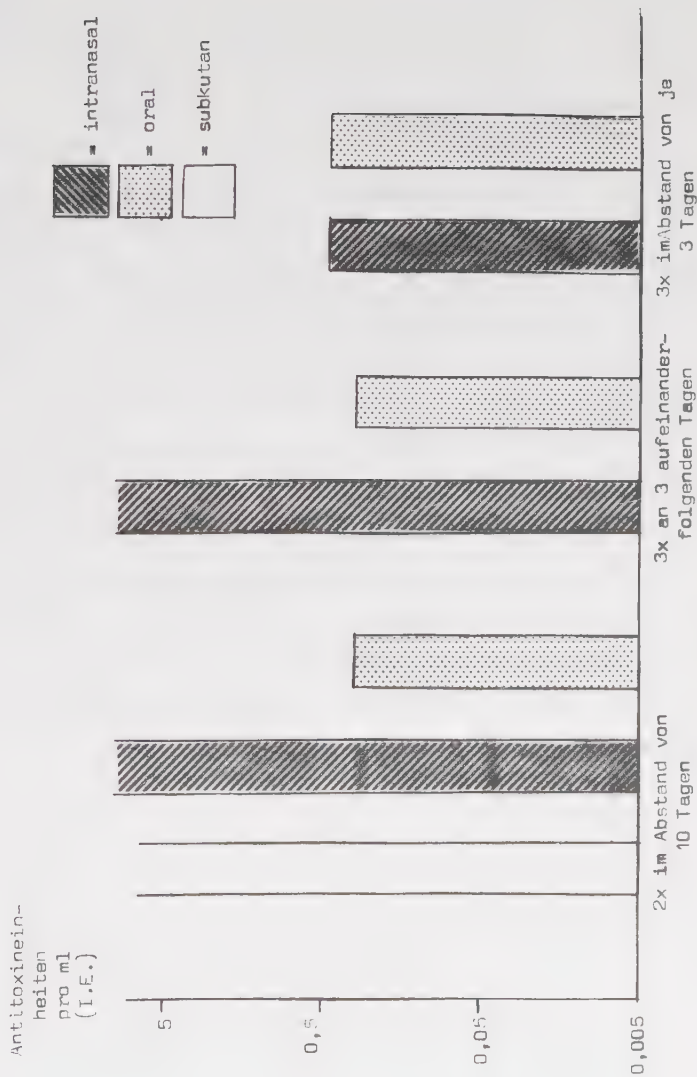


Abb. 15: Ergebnis der Antitoxinuntersuchungen im Serum von Mäusen nach mehrmaliger

lokaler und parenteraler Tetanus-Toxoid Applikation



4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die vorliegenden Untersuchungen beweisen, daß eine orale Immunisierung mit Tetanus-Toxoid nur Erfolg hat, wenn das oral gegebene Toxoid möglichst lange mit den Schleimhäuten des Mundbereiches in Kontakt kommt. Der Kontakt beim normalen Trinkakt reicht hierfür, zumindest bei der Maus und dem Meerschweinchen, nicht aus, wie die fehlende Immunität nach der Trinkwasserimmunisierung beweist. Das Toxoid muß vielmehr so appliziert werden, daß es nicht sofort abgeschluckt werden kann. Dadurch wird ein längerer und intensiverer Kontakt mit der Schleimhaut der Mundhöhle gewährleistet.

Die intranasale Applikation ergab eine sehr viel bessere Immunität als die orale; obwohl wir intranasal nur die halbe orale Dosis verabreichten, lag der Wirksamkeitsindex um 10 Einheiten über dem besten Wirksamkeitsindex der oralen Impfungen. Der Resorption des Toxoids über die Schleimhäute des Respirationstraktes fällt also die größere Bedeutung zu. Die gute, lokale Immunisierung gegen Tetanus über den Respirationstrakt wird auch allgemein bestätigt (2, 31, 101, 102). Die Wirksamkeit der intranasalen Immunisierung war in unseren Versuchen, was die Antitoxinbildung anbetrifft, sogar der parenteralen Impfung ebenbürtig.

Die fehlende Immunisierbarkeit über den Magen- Darm- Trakt ist wahrscheinlich der Grund, warum die bisher in der Literatur beschriebenen Ergebnisse nach einer oralen Immunisierung gegen Tetanus so unterschiedlich ausfielen (36, 64, 83, 98, 99, 100). In Fällen, in denen das Toxoid in Form von Tabletten oder Dragees verabreicht wurde, fehlte der intensive Kontakt mit den Schleimhäuten der Mundhöhle und es war

auch kein Immunisierungserfolg zu erwarten. Dagegen konnten VERONESI et al. (134) nach oraler Verabreichung größerer Mengen flüssigen Toxoids beim Meerschweinchen eine gute Immunität erzielen. Durch die Applikation des flüssigen Toxoids kam es zu einem intensiven Kontakt des Toxoids mit den Schleimhäuten der Mundhöhle und damit zu einer ausreichenden Resorption.

Ein wichtiger Gesichtspunkt, der bei einer Entscheidung über eine orale bzw. nasale oder parenterale Immunisierung diskutiert werden muß, ist der Zeitpunkt des Eintrittes des Impfschutzes. Hier hat sich gezeigt, daß im Falle eines "Schnellschutzes" die orale bzw. intranasale Impfung der parenteralen Impfstoffapplikation überlegen ist. Bei der oralen und nasalen Impfung konnten wir schon in der ersten Woche nach der Impfung eine Immunität nachweisen, dagegen bei der parenteralen erst in der 2. Woche. Damit kann auch für die orale bzw. nasale Immunisierung mit Tetanus-Toxoid das bestätigt werden, was von oralen Impfungen mit anderen Antigenarten schon bekannt ist (96). Nur dürfte dem "Schnellschutz" gerade im Fall der Tetanusinfektion eine besondere Bedeutung zukommen.

Die Ergebnisse der Antitoxinuntersuchungen fielen für die lokale Immunisierung günstiger aus, als die Ergebnisse nach der Toxinbelastung. Der Wirksamkeitsindex nach lokaler Impfung war in vielen Fällen, bei gleichem Antitoxintiter, deutlich niedriger, als nach parenteraler Impfung. Dies ist überraschend, weil bei einer subkutanen Toxinbelastung für die Immunität allein der Antitoxintiter im Serum ausschlaggebend sein müßte. Die Ursache für diese Diskrepanz konnte in unseren Untersuchungen nicht geklärt werden.

Die Beurteilung der 3 Impfmethoden für die Praxis erfordert eine genaue Abwägung der Vor- und Nachteile. Für eine wirksame lokale Impfung gegen Tetanus benötigt man sehr viel höhere Toxoiddosen als bei der parenteralen Impfung. Dabei genügt die einmalige Applikation einer großen Toxoiddosis nicht. Erst eine 3malige Impfung mit der 100 - (oral) bzw. 50 - (nasal) fachen parenteralen Dosis brachte den gleichen Wirksamkeitseffekt wie eine einmalige subkutane Immunisierung. Diesem Nachteil der lokalen Immunisierungen stehen jedoch viele Vorteile gegenüber. Bei der großen Ablehnung weiter Teile der Bevölkerung von Injektionsimpfungen würde sich durch die lokale Immunisierung mit großer Wahrscheinlichkeit ein weitaus höherer Durchimpfungsgrad erzielen lassen, als mit den bisher üblichen Impfverfahren. Eine orale, weniger die nasale Immunisierung, ist schnell und vor allen Dingen gefahrlos möglich. In Notsituationen könnte sie deshalb - sowohl was das Einzelindividuum, als auch was die Population betrifft - ohne Risiko und ohne Berücksichtigung einer eventuellen Impfunfähigkeit durchgeführt werden. Impfreaktionen, wie sie derzeit bei der parenteralen Verabreichung von Tetanus-Toxoid immer wieder beobachtet werden, würden entfallen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In Modellversuchen an der Maus und dem Meerschweinchen wurde vergleichend die orale, intranasale und subkutane Immunisierung mit Tetanus-Toxoid untersucht. Die Prüfung der Wirksamkeit erfolgte im Belastungsversuch und mit der Antitoxinbestimmung.

Nach einer einmaligen Impfung von Mäusen über die Mundschleimhäute mit 200 Lf Tetanus-Toxoid betrug der Wirksamkeitsindex 75. Im Vergleich dazu maßten wir bei der einmaligen subkutanen Applikation von 2 Lf einen Wirksamkeitsindex von 100 und bei einer einmaligen intranasalen Applikation von 100 Lf einen Wirksamkeitsindex von 93.

Eine orale Immunisierung führte nur dann zu einem belastbaren Schutz, wenn das Toxoid intensiv mit den Schleimhäuten der Mundhöhle in Kontakt kam. Eine lokale Immunisierung über den Magen-Darm-Trakt hatte dagegen keinen Erfolg.

Bei einer lokalen Immunisierung über die Schleimhäute der Mundhöhle und des Respirationstraktes kommt es zu einer schnelleren Ausbildung der Immunität, als nach parenteraler Impfung. Am 5. Tag post vaccinationem erwiesen sich 20 % der lokal geimpften Tiere immun. Zum gleichen Zeitpunkt war bei den subkutan geimpften Tieren noch keine Immunität ausgebildet.

.. Inaktiviertes Tetanus-Toxoid wirkte bei der oralen Applikation besser immunogen als hitzeabgetötetes Toxin.

Die durch die Belastung erhaltenen Schutzwerte korrelieren nicht mit dem Gehalt an Antitoxinen im Serum. Die Antitoxintiter der

oralen und intranasalen Impfung waren nach einmaliger Immunisierung denen nach subkutaner Impfung ebenbürtig. Revakzinationen führten nur bei subkutaner und intranasaler Impfung zu einem deutlichen Antitoxinanstieg.

Die an Mäusen gewonnenen Ergebnisse lassen sich auch auf Meer-schweinchen übertragen.

SUMMARY

Model-experiments with mice and guinea-pigs were used for the investigation of oral immunization in comparison with intranasal and subcutaneous immunization with tetanus-toxoid. The efficacy was tested by challenge and antitoxin-determination.

After a single vaccination of mice with 200 Lf tetanus-toxoid onto the mucous membranes of the oral cavity the efficiency index was 75. In comparison, a single subcutaneous application of 2 Lf tetanus-toxoid resulted in an efficiency of 100 and a single intranasal immunization with 100 Lf tetanus-toxoid in an efficiency of 93.

The oral immunization with tetanus-toxoid induced a reasonable protection only when toxoid was in intensive contact with the mucous membranes of the oral cavity. Local immunization via gastro-intestinal-tract failed.

Temporary development after immunization via the mucous membranes of the oral cavity and the respiratory-tract was much accelerated if compared with parenteral immunization. 20 % of locally immunized animals were immune 5 days p.vacc.. At the same time subcutaneously immunized animals failed to develop any protection.

Formaline-inactivated tetanus-toxin in oral application showed higher immunizing capacity than heat-inactivated toxin.

The efficiency rates obtained in challenge do not correlate with antitoxin content in the serum. Antitoxin-titers after one oral or intranasal vaccination were similar to the antitoxin-titers after

one subcutaneous immunization. A distinct increase in antitoxin-titers could only be observed after subcutaneous and intranasal revaccinations.

The results obtained with mice apply in the same way also to guinea-pigs.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Aegerter, F. L'immunisation simultanée, active et passive, contre le tétanos.
Etude sur le cobaye.
Inaug. Diss. Bern 1954
zit. n. Regamey, R. H. (109)
2. Alatyrtseva, I. E. Single intranasal revaccination with diphtheria-tetanus-toxoid.
and A. Mayanski
J. Mikrobiol. 5, 81 (1967)
3. D'Antona, D. Effets de la variation quantitative des Stimuli antigéniques primaires et secondaires. Mécanisme d'action des adjuvants de l'immunité.
and S. Piazzì
Rev. Immunol. 20, 317, (1956)
4. Behring, E. v. Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren.
und A. Kitasato
Dtsch. med. Wschr. 16, 1113, (1890)
5. Behring, E. v. Über ein neues Diphtherieschutzmittel.
Dtsch. med. Wschr. 39, 873, (1913)
6. Bianchi, R. Zur Serumprophylaxe des Tetanus
Helv. med. Acta 29, 38, (1962)
7. Binns, P. M. An analysis of tetanus prophylaxis in 3455 cases.
Brit. J. Prev. Soc. Med. 15, 180, (1961)
8. Bizzini, B. Pouvoir immunogène d'anatoxines tétaniques de divers degrés de pureté et de polymérisation.
A. Turpin
M. Raynaud
Ann. Inst. Pasteur 120, 791, (1971)
9. Boivin, A. Méthode pour la purification à l'acide trichloracétique, des toxines et anatoxines diphthériques, tétaniques et staphylococciques.
et Y. Izard
C. R. Soc. Biol. (Paris) 124, 25, (1937)

10. Bojlen, K. The duration of immunity following diphtherie-
and Scheibel, I. vaccination.
Dan.med.Bull. 2, 70, (1955)

11. Boroff, D.A. and Botulinum Toxin in: S.J.Ail, S.Kadis,
B.R.Dasgupta T.C.Montie "Microbial Toxins" Vol II A
Academic Press, New York and London 1971

12. Cabau, N. Vaccination antidiphthérique - anti-
A.L.Levy tétanique par anatoxines adsorbées sur
E.H.Relyveld phosphate de calcium en deux injections
R.Labusquiere à un an d'intervalle.
A.Poirier Ann.Inst.Pasteur 119, 663, (1970)
P.Ravisse et
L.Chambon

13. Chang, H. Studies on the mechanism of the
S.Schneck supression of active antibody synthesis
N.Brody by passively administered antibody.
A.Deutsch J.Immunol. 102, 37, (1969)
G.W.Siskind

14. Chodnik, K.S. The transmission of immunity to Tetanus
D.J.Gull from ewe to lamb.
I.A.Addisson Vet.Rec. 72, 277, (1960)

15. Cooke, R.A. and The duration of passive tetanus immunity and
F.G.Jones its effect on active immunization
with tetanus toxoid.
J.A.M.A. 121, 1204, (1943)

16. Decker, P. et Sérum et vaccin pour la prévention et le
C.A.Pettavelli traitement du tétanos.
Rev.med.Suisse rom. 81, 313, (1961)

17. Dixon, F.J. The half-life of homologous gammaglobulin
D.W.Talmage (Antibody) in several species.
P.H.Maurer and J.exp.Med. 96, (1952)
M.Deichmiller

18. Eckmann, L. Tetanus. Prophylaxe und Therapie.
Schwabe, Basel (1960)

19. Eckmann, L. Active and passive tetanus immunization.
New.Eng.J.Med. 271, 1087, (1964)

20. Edsall, G. Specific prophylaxis of tetanus.
J.A.M.A. 171, (1959)

21. Edsall, G. Immunological principles in active
immunization against Tetanus.
in: L.Eckmann " Principles on Tetanus "
Huber, Bern und Stuttgart 1967

22. Ehrengut, W. Die Diphtherieschutzimpfung
in: A.Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen"
Springer-Verlag , Berlin 1965

23. Ellis, M. Tetanus prophylaxis.
Brit.med.J. 1, 1438, (1964)

24. Evans, J. Active immunization against Tetanus.
Lancet 2, 216, (1941)

25. Falchetti, E. Sur le sort de l'antitoxine lors des
réinjections de serum antitétanique par
voie sous-cutanée.
C.R.Soc.Biol. 124, 96, (1937)

26. Fessler, J.F. Prophylaxis of tetanus in horses.
J.Americ.vet.med.Ass. 148, 399, (1966)

27. Finger, H. und Probleme der simultanen Verabfolgung von
H.P.R.Seeliger Tetanus-Antiserum und Tetanus-Toxoid.
Off. Gesundh.wes. 34, 459, (1972)

28. Fick, M.A. Studies on immunity to toxins of
L.F.Devine Cl.Botulinum. VIII.Immunological
N.F.Gearinger response of man to purified bivalent
J.T.Duff A B Botulinum-Toxoid.
G.C.Wright J.Immunol. 88, 277, (1962)

38. Hardegree, M.C. Immunization against neonatal tetanus in New-Guinea. 2. Duration of primary antitoxin responses to adjuvant Tetanus-Toxoids and comparison of Booster responses to adjuvant and plain toxoids. Bull.Wld.Hlth.Org. 43, 439, (1970)
39. Harrefeld, H.P. Verträglichkeit und Wirksamkeit von Tetanusimmunglobulin. Dtsch.med.Wschr. 97, 364, (1972)
40. Hegyessy, G. A study of the immunity against tetanus toxin following the use of a combined typhoid-tetanus vaccine. Brit.J.exp.Path. 37, 300, (1956)
- S.Bozcoky and
E.Schalek, jr.
41. Hennessen, W. Immunisierungsmethoden. in: A.Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen" Springer-Verlag, Berlin 1965
42. Hernandez, R. Immunglobulin classes of human Antitoxin after Tetanus vaccination. Studied by Immunofluorescence with Agarose bound Tetanus-Toxoid. Z.Imm.Forsch. 145, (1973)
- M.Just and
A.Bürgin-Wolff
43. Herrlich, A. Die passive Immunisierung im Impfprogramm. in: A.Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen" Springer-Verlag, Berlin 1965
44. Heyningen, W.E. The pathogenic Action of Exotoxins. Zbl.Bakt. I.Abt.Orig. 212, 191, (1969)
45. Heyningen, W.E. General Characteristics. in: S.J.Ail, S.Kadis, T.C.Montie "Microbial Toxins" Vol.I Academic Press, New York and London 1970
46. Heyningen, W.E. Tetanus Toxin. in: S.J.Ail, S.Kadis, T.C.Montie "Microbial Toxins" Vol. IIA Academic Press, New York and London 1971
- and J.Mellanby

47. Holt, L.B. The preparation of purified and concentrated diphtheria toxoid from a semi-synthetic medium.
Brit.J.exp.Path. 29, 335, (1948)
48. Hottinger, A. Die Diphtherie. in: Handb.inn.Med. Bd.I 1.Teil
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1952
49. Humphrey, J.H. Kurzes Lehrbuch der Immunologie,
R.G.White Thieme, Stuttgart 1972
50. Ilic, D. Die Dynamik der Bildung von antitoxischen Einheiten nach erster Dosis des Anti-Tetanus-Impfstoffes.
Z.ges.Hyg. 7, 230, (1961)
51. Ipsen, G. Changes in immunity and antitoxin level immediately after secondary stimulus with tetanus toxoid in rabbits.
J.Immunol. 86, 50, (1961)
52. Isplatorovskaya, M. Type A clostridium perfringens Toxin.
in: S.J.Ail, S.Kadis, T.C.Montie:
"Microbial Toxins" Vol.IIa
Academic Press, New York and London 1971
53. Jännes, L. Two combined pertussis-diphtheria-tetanus prophylactis. A comparative study with different contents of diphtheria toxoid and adjuvant.
T.Kosunen
and P.Leisti
Ann.Med.exp.Fenn. 38, 252, (1960]
54. Jensen, C. Antitoxin curve in children after active immunization with diphtheria anatoxin with special reference to the duration of the antitoxic immunity.
Acta.path.et microbiol.scand, 10, (1933)
55. Kaiser, G.G. Delayed recall of active tetanus immunization.
R.D.King J.A.M.A. 178, 914, (1961)
R.E.Lempke
M.H.Ruster

56. Kateley, I.R.
S.F. Lyons and
H. Friedmann Immunocyte response to a purified bacterial
Toxin (cholera) and Toxoid; cytochemicals,
immunoglobulin class and specificity.
J. Immunol. 112, (1974)
57. Katic, R.V. Valeur de l'immunité antitétanique après
injection de rappel, chez les vaccinées
en cours de gravidité.
Rev. Immunol. 24, 521, (1960)
58. Kestermann, E.
und K.E. Vogt Zur Frage der aktiven Schutzimpfung gegen
Gasödem und Tetanus.
Klin. Wschr. 1009 (1940)
59. Kind, L.S. Prophylactic Value of tetanus antitoxin
in mice previously injected with horse serum.
Brit. Med. J. 1, 498, (1957)
60. Klingenberg, H.J.
und W. Maresch Gefahren der passiven Tetanusserum-
prophylaxe.
Wien. Klin. Wschr. 606, (1958)
61. Klose, F. und
G. Schallehn Ein Beitrag zur aktiven und passiven Schutz-
impfung gegen Cl. novyi und Cl. tetani.
Z. Imm. Forsch. 138, 480, (1969)
62. Krasemann, C.
und W. Schneider Die Wirksamkeitsdauer und enzymatische
Desintegration von homologem und
heterologem Tetanusantitoxin im Meerschweinchen.
Z. Imm. Forsch. 143, 59, (1972)
63. Kraut, J.J. Passive immunization with human serum tetanus
antitoxin.
Ann. Allergy. 20 (1962)
64. Lemetayer, F. Essais d'immunisation active du lapin et du
cobaye par administration d'anatoxin
tétanique par les voies buccale et rectale.
Press méd. 761
65. Lentz, M.N.
E.K. Lentz
I.A. Traugott Experience in Transplacental Transmission
of Tetanus Immunity.
Zh. Mikrobiol. 44, 12, (1962)

66. Levine, L. Adult immunization. Preparation and
J. Ipsen evaluation of combined fluid tetanus and
J. A. McComb diphtheria toxoids for adult use.
Amer. J. Hyg. 73, 20, (1961)
67. Levine, L. Active-passive immunization.
J. A. McComb New. Eng. J. Med. 274, 186, (1966)
R. C. Dwyer
W. C. Latham
68. Ley, H. L. jr. Formaldehyde induced tetanus toxoid
W. C. Latham polymerization.
L. Levine and Fed. Proc. 25, 612, (1966)
G. Edsall
69. Loke, R. E. Heterogeneity of Sheep Diphtheria and
and D. Segre Tetanus Antibodies.
J. Immunol. 45, 480, (1965)
70. Magrassi, F. zit. n. Regamey, R. H. (199)
71. Mai, K. Über den Stand und die Dauer des Impfschutzes
H. K. Bartelheimer gegen Tetanus bei Kindern.
und H. Rosin Dtsch. Med. Wschr. 95, 1044, (1970)
72. Mayr, A. Über Resistenz und Immunität.
in: A. Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen"
Springer-Verlag, Berlin 1965
d
73. McComb, J. A. Adult immunization. II. Dosage reduction
and L. Levine as a solution to increasing reactions to
tetanus-toxoid.
New. Eng. J. Med. 265, 1152, (1961)
74. McComb, J. A. Passive-active immunization with tetanus
and R. C. Dwyer immunoglobulin.
New. Eng. J. Med. 268, 857, (1963)
75. McComb, J. A. The prophylactic dose of homologous tetanus
antitoxin.
New. Eng. J. Med. 270, 175, (1964)

76. McComb, J.A. The combined use of homologous tetanus
 immunglobulin and toxoid in man.
 in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
 Huber, Bern und Stuttgart 1967
77. McLennon, R. Immunization against Neonatal-Tetanus in
 New-Guinea: Antitoxin response of pregnant
 women to adjuvant and plain toxoid.
 Bull.Wld.Hlth.Org. 32, 683, (1965)
78. Mellanby, J. Specific precious protective Action of Toxoids.
 Heyningen, W.E. Nature 203, 312, (1964)
79. Merieux, Ch. Comment faciliter la pratique de la
 et Merieux, J. vaccination contre le tétanos et
 l'identification des sujets correctement
 vaccinés?
 Path.Biol. 1947, (1959)
80. Metrev, K.I. The duration of passive immunity in
 B.O.Bychenko prophylaxis of tetanus.
 P.N.Petrov Zh.Mikrobiol. 47, 32, (1970)
 Z.N.Trunova
81. Mikhailova, Z. The origine of antibodies of various
 L.G.Afonina specificity in the sera of prenatue babies
 the first weeks after birth.
 Zh.Mikrobiol. 49, 88, (1972)
82. Moloney, P. Active-passive immunization against tetanus
 in man. in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
 Huber, Bern und Stuttgart 1967
83. Nathan-Lerrier, L. L'anatoxin tétanique et l'immunité anti-
 G.Ramon et tétanique chez la mère et le nouveau né.
 E.Grasset Ann.Inst.Pasteur 41, 848, (1972)
84. Newell, K.W. Tetanus neonatorum: Epidemiology and prevention.
 in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
 Huber, Bern und Stuttgart 1967

85. Norlin, G. Purification of diphtheria toxin and diphtheria toxoid.
Acta.path.microbiol.scand. 24, 505, (1947)
86. Oakley, C.L. Immunology of Bacterial Protein Toxins.
in: S.J.Ail, S.Kadis, C.T.Montie
"Microbial Toxins" Vol.I
Academic Press New York and London 1970
87. Pappenheimer, A. Isolation and characterization of a toxic protein from *Coryneb. diphtheriae* filtrates.
J.biol.chem. 120, 543, (1937)
88. Pappenheimer, A. A study of reactions following administration of crude and purified diphtheria toxoid in an adult population.
G.Edsall
H.S.Lawrence
and H.J.Banton
Amer.J.Hyg. 52, 323, (1950)
89. Peetom, F. and M.van der Veer The antigenic structure of Tetanus toxin and toxoid and its relationship with Tetanus immunology.
in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967.
90. Pillemer, L. The immunochemistry of toxins and toxoids.
R.G.Wittler VI. The cristallization and characterisation of tetanal toxin.
J.I.Burrell
D.B.Grossberg
J.exp.Med. 88, 204, (1948)
91. Pillemer, L. The clinical behavior, incubation period, and pathology of tetanus induced in white swiss mice by injection of cristalline tetanal toxin.
B.Wortman
J.Immunol. 55, 277, (1947)
92. Pletcityi, F.D. About lines of increasing the efficiency of immunization against Tetanus.
in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967

93. Poser, C.M. Focal encephalopathy after administration of tetanus antitoxin.
J.A.M.A. 164, 871, (1957)
94. Prevot, F. Proposition of a world wide experiment to eradicate Tetanus.
in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967
95. Raettig, H.J. Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung. VII. Mitt. Die polio provozierende Gefahr der Diphtherie-Toxoid enthaltenden Impfstoffe.
Zbl. Bakt. I. Ref. 182, 106, (1962)
96. Raettig, H.J.
R.Steffen und
I.Schubert Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen.
16. Mitt. Zeitkinetik des Impfschutzes.
Zbl. Bakt. I A, Orig. 225, 263, (1973)
97. Ramon, G. Sur la toxine et sur l'anatoxine diphthériques. Pouvoir flocculant et propriétés immunisantes.
Ann.Inst. Pasteur 38, 1, (1924)
98. Ramon, G. et
E.Grasset Sur l'immunité antitoxique active par voie buccale chez l'animal d'expérience.
C.R.Soc.Biol. 95, 36, 1405, (1926)
99. Ramon, G. et
E.Grasset Recherches sur le passage des toxines des anatoxines et des antitoxines à travers les parois du tube digestif. De l'immunité antitoxique active et passive par voie digestive chez l'animal d'expérience.
Ann.Inst. Pasteur 41, 868, (1927)
100. Ramon, G. et
C.Zoeller Essais d'immunisation antitoxique active et passive par voie buccale chez l'homme.
C.R.Biol. 95, 36, 1409, (1926)
101. Ramon, G. et
C.Zoeller Nouveaux résultats concernant les rhinovaccinations antitoxiques.
Press.med. 927
Zit.n.Zbl. Bakt. I Rev. 88, 490, (1928)

102. Ramon, G. et C. Zoeller
De l'immunisation antitoxique par voie nasale chez l'homme et du mécanisme de l'immunisation occulte.
C.R.Biol. 96, 757, (1927)
103. Ramon, G. et C. Zoeller
Sur la valeur et la durée de l'immunité conférée par l'anatoxine tétanique dans la vaccination de l'homme contre le tétanos.
C.R.Biol. 112, (1933)
104. Ramon, G. et E. Falchetti
Recherches expérimentales sur l'immunisation antitétanique passive. Élimination rapide de l'antitoxine lors des réinjections de sérum antitétanique.
C.R.Biol. 119, 6, (1935)
105. Ramshorst, J.D. et W. Ehrengut
Die Diphtherieschutzimpfung.
in: A. Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen" Springer-Verlag, Berlin 1965
106. Regamey, R.H.
Étude expérimentale sur la résorption et l'élimination du sérum antitétanique chez le lapin.
Schweiz.Z.allg.Path. 2, 590, (1940)
107. Regamey, R.H.
Effets, chez le lapin d'injections répétées de sérum antitétanique issu d'animaux appartenant à des espèces différents.
Schweiz.Z.allg.Path. 16, 873, (1953)
108. Regamey, R.H.
Anaphylaxie: résorption et élimination des sérums thérapeutiques.
Problèmes actuels de pédiatrie 1, 393, (1954)
109. Regamey, R.H.
Die Tetanusschutzimpfung.
in: A. Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen" Springer-Verlag, Berlin 1965
110. Regamey, R.H.
Inhibition of the active Tetanus immunity by specific antitoxin.
in: L. Eckmann "Principles on Tetanus" Huber, Bern und Stuttgart 1967

111. Reismann, R.E. Immunologic studies of serum sickness from
and N.R. Rose bovine antitetanus-toxin.
J.A.M.A. 176, 1004, (1961)
112. Rubbo, S.D. Passive immunization against tetanus with
J.C. Suri human immune globuline.
Brit.Med.J. 2, 79, (1962)
113. Rubbo, S.D. Combined active-passive immunization against
J.C. Suri tetanus with human immune globulin.
Med.J.Aust. 2, (1965)
114. Rubbo, S.D. Prophylaxis against Tetanus.
in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967
115. Rubinstein, H.M. Studies on human tetanusantitoxin.
Amer.J.Hyg. 76, 276, (1962)
116. Sachs, A. Modern views on the prevention of tetanus
in the wounded.
Proc.roy.Soc.Med. 45, (1952)
117. Scheibel, T. Duration of immunity after Tetanus immunization.
M.W.Bentzon in: L.Eckmann "Principles on Tetanus"
P.E.Christensen Huber, Bern und Stuttgart 1967
118. Schlegel, J.J. Tetanustherapie und Prophylaxe.
Dtsch.Z.Chir. 184, 80, (1956)
119. Schmidt, H. Pathogenese, Therapie und Prophylaxe des
Tetanus.
N.G.Elwert Verlagsbuchhandlung, Marburg/Lahn 1952
120. Schneeweiß, B. Der Einfluß von Tetanusantitoxin-Gaben auf
die antitoxische Immunität des Menschen.
Zbl.Chir. 88, 401, (1963)
121. Schwabe, H. Gefahren der passiven Tetanusprophylaxe.
Mts.schr.Unf.Heilk. 62, (1959)

122. Schofield, F.D. Neonatal tetanus in New-Guinea:
L.R. Westbrook Effect of active immunization in pregnancy.
and V.M. Tucher Brit. Med. J. 2, (1961)
123. Schofield, F.D. Maternal immunization against Tetanus of
the newborn.
in: L. Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967
124. Stafford, E.G. On the permanence of antitetanus Immunization.
T.B. Turner and Ann. Surg. 140, 563, (1954)
L. Goldmann
125. Starflinger, H. Experimentelle Untersuchungen zur oralen
Immunisierung mit Tetanus-Toxoid.
Inaug. Diss. München 1974
126. Stümpel, K. Ist bei der aktiven Immunisierung gegen
Tetanus ein sicherer Impfschutz zu er-
warten, wenn die Zweit-Impfung später als
12 Wochen nach der Erst-Impfung erfolgt?
Zbl. Arbeitsmed. 10, 53, (1960)
127. Sukhorokova, N.G. Duration of diphtheria carrier state in
N.V. Chernina relation to antitoxic immunity and other
N.S. Medvedera factors.
Zh. Mikrobiol. 48, 54, (1971)
128. Suri, J.C. Immunization against Tetanus.
J. Hyg. Camb. 59, 29, (1961)
129. Ungar, J. Heterologous antitoxin and homologous
immune globulin in Tetanus prophylaxis.
in: L. Eckmann "Principles on Tetanus"
Huber, Bern und Stuttgart 1967
130. Thomas, J.E. Bilateral allergie neuronitis of the
N.P. Goldstein acoustic nerve after administration of
and H. Williams Tetanus antitoxin.
Proc. Mayo Clin. 32, 131, (1957)

131. Trinca, J.C. Antibody response to successive Booster
Dose of Tetanus Toxoid in Adults.
Inf.Imm. 10, 1, (1974)
132. Valguist Centre International de l'Enfance
Levy .Symp. Cie. 1959
Kendrik Zit. n. Regamey, R.H. (109)
133. Vanek, E. Weniger bekannte und seltener angewandte
Impfungen.
in: A.Herrlich "Handbuch der Schutzimpfungen"
Springer-Verlag, Berlin 1965
134. Veronesi, R. A new outlook on the prophylaxis of tetanus;
Correa, A. immunization by the digestive route.
Tavares, J. Rev.Hosp.clin.Fac.Med.Sao Paulo 27, 123, (1972)
135. Volk, V.K. Response to two small doses of tetanus
R.Y.Gottshall toxoid singly or combined as DT or OTP.
H.D.Anderson Publ.Hlth.Rep. 78, 264, (1963)
H.R.Top
W.E.Bunney
and F.Angela
136. Westphal, O. Chemie und Biologie bakterieller
Endotoxine.
Zbl.Bakt. I.Abt. Orig. 212, 198, (1969)
137. Wiener, S. Persistence of tetanusantitoxine in
R.W.Patterson children two years after third dose of
E.F.Mackenzie tetanus toxoid.
Med.J.Aust. 1, 188, (1959)
138. Wilson, G.S. In Topley and Wilson's
and A.Miles "Principles of Bakteriologie and Immunity" 1964
139. Zajdel, R. Purification et concentration de
l'anatoxine diphtérique par la méthode
d'ultrafiltration: Méthodes de vaccinations
par l'anatoxine purifiée.
C.R.Soc.Siol. 116, 239, (1946)

140. Züst,B. Die Simultanprophylaxe gegen Tetanus mit
Tetanusimpfstoff und humanem Anti-Tetanus
Globulin.
Z.Imm.Forsch. 132,261 (1967)
141. --- WHO Techn.Rep.Ser.Nr. 108
142. --- Rote Liste
Herausgeber: Bundesverband der Pharmazeutischen
Industrie e.V.
Frankfurt a.M. 1974

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr möchte ich an
dieser Stelle für die Überlassung des Themas
und für wertvolle Hinweise danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. G. Baljer
für die jederzeit gewährte hilfreiche Unter-
stützung.

LEBENS LAUF

Am 8. Februar 1947 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Max Jörg und seiner Ehefrau Sofie, geb. Fischer, in Ravensburg geboren.

Nach vier Jahren Volksschule trat ich 1957 in das Neue Gymnasium Ravensburg ein, wo ich 1966 die Reifeprüfung ablegte.

Von Januar 1967 bis April 1968 leistete ich den Grundwehrdienst bei der Bundeswehr ab.

Im Sommersemester 1968 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München, das ich im Oktober 1973 mit dem Staatsexamen beendete.

